

FACULTE DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1961

THESE

N°

503

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques, Philippe BEJOT

Ancien Externe en Premier des Hôpitaux de Paris
Interne des Hôpitaux de la région de Paris

Né le 12 Mars 1930, à ANGERS (Maine-et-Loire)

Présentée et soutenue publiquement le 1^{er} Juin 1961

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA REACTION
ANTIGENE - ANTICORPS APPLIQUÉE
AU DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE
DES MALADIES INFECTIEUSES

Président : Monsieur R. FASQUELLE (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE

8. Rue Casimir Delavigne
PARIS - VI°

1962

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

--:-

Année 1961

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Jacques, Philippe BEJOT

Né le 12 Mars 1930 à ANGERS (Maine et Loire)

Ancien Externe en Premier des Hôpitaux de Paris

Interne des Hôpitaux de la région de Paris

--:-

Présentée et soutenue publiquement
le 1er Juin 1961

--:-

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA REACTION

ANTIGENE-ANTICORPS APPLIQUEE AU DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

DES MALADIES INFECTIEUSES

--:-:-

Président : Monsieur R. FASQUELLE (Professeur)

--:-

DACTYLO-SORBONNE

8, rue Casimir Delavigne

PARIS

1962





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553817_0085

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE (T), AUBIN (A), BERNARD (H), BULLIARD (H), CADENAT (F), CHABROL (E), CHAMPY (C), DEBRE (R), FEY (B), GASTINEL (P), HALPHEN (E), HAZARD (R), HEUYER (G), LANTUEJOUL (P), LAROCHE (G), LEVY-SOLAL (E), LIAN (C), MATHIEU (P), MOCQUOT (P), MONDOR (H), MONOD (R), MOREAU (R), MOULONGUET (P), OLIVIER (E), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D), QUENU (J), RICHET (C), SENEQUE (J), STROHL (A), TANON (L).

DOYEN Léon BINET
Membre de l'Institut

1er ASSESSEUR Jean VERNE
2e ASSESSEUR Gaston CORDIER

I - PROFESSEURS

1^{re} - CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A)
Anatomie pathologique	DELARUE (J)
Anesthésiologie	BAUMANN (J)
Biochimie médicale	(JAYLE (M.F) SCHAPIRA (G)
Biologie appliquée à l'Educa- tion physique et aux sports	CHAILLEY-BERT (P)
Biologie médicale	FAUVERT (R)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J)
Embryologie	GIROUD (A)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N...
Histologie	VERNE (J)
Hygiène et médecine préventive	JACANNON (P)
Médecine du Travail	DESOILLE (H)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R)
Parasitologie	GALLIARD (H)
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J)
Pathologie exotique	LAVIER (G)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.P)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P)

MM.

Pathologie respiratoire	TURIAF (J)
Pathologie et thérapeutique gé- nérales	BOUDIN (G)
Pharmacologie	CHEYMOL (J)
Physiologie	{ BINET (L)
	{ BARGETON (D)
Physiologie et pathologie obste- tricale	LEPAGE (F)
Physique médicale	{ DOGNON (A)
	{ DJOURNO (A)
Radiologie médicale	DESGREZ (H)
Technique chirurgicale et Chirur- gie expérimentale	N...
Thérapeutique	CONTE (M)

b) Professeurs à titre personnel:

Biochimie médicale	{ DESGREZ (P)
	{ POLONOVSKI (J)
Biologie médicale	BOURLIERE (F)
Embryologie	TUCHMANN (H)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M)
Parasitologie	BRUMPT (L.C)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G)
Pharmacologie	LEVY (Mlle J)
Physiologie	PARROT (J)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L)

2°- CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires

Clinique carcinologique chirur- gicale (Necker)	REDON (H)
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M)
(Beaujon	LORTAT-JACOB (J.L)
(Cochin	LEGER (L)
Cliniques chi- (Hôtel-Dieu	PATEL (J)
rurgicales (Pitié	CORDIER (G)
(Saint-Antoine	GOSSET (J)
(Salpêtrière	SICARD (A)
(Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants Malades)	FEVRE (M)
Clinique chirurgicale orthopédi- que et réparatrice (Cochin)	MERLE d'AUBIGNE (R)
Clinique de chirurgie cardio- vasculaire (Broussais)	F. de GAUDART d'ALLAINES

Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)	MATHEY (J)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	IAMY (M)
Clinique gynécologique (Broca)	FUNCK-BRENTANO (P)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)	CATHALA (J)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	HAMBURGER (J)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	MARCHAL (G)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P)
(Boucicaut	LENEGRE (J)
(Broussais	SOULIE (P)
(Cochin	JUSTIN-BESANÇON (L)
Cliniques médi- (Cochin	BROUET (G)
cales (Hôtel-Dieu	BARIETY (M)
(Lariboisière	SEZE (S.de)
(Pitié	DREYFUS (G)
(Saint-Antoine	KOURILSKY (R)
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	GENNES (L.de)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R)
Cliniques obs- (Baudelocque	LACOMME (M)
tétricales (Foch (Suresnes)	MERGER (R)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J)

MM.

Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	RENARD (G)
Clinique oto-rhino-laryngolo- gique (Lariboisière)	AUBRY (M)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent- de-Paul)	LELONG (M)
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L)
Clinique de rhumatologie mé- dicale et sociale (Cochin)	COSTE (F)
Clinique stomatologique (Pitié)	DECHAUME (M)
Clinique thérapeutique chirur- gicale (Vaugirard)	ROUX (M)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M)
Clinique traumatologique	PADOVANI (P)
Séméiologie médicale	DOMART (A)
Séméiologie et clinique chirur- gicales	POILLEUX (F)
Clinique urologique (Necker)	COUVELAIRE (R)
Hygiène et clinique de la pre- mière enfance (Trousseau)	TURPIN (R)

b) Professeurs à titre personnel :

	(BOUR (H)
Médecine	(LHERMITTE (F)
	(PEQUIGNOT (H)

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS
AGREGES ET MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

MM.

Anatomie	(CABROL (C)
	(GOUINAUD (C)
	(GILLOT (C)
	(OLIVIER (G)
	(GAUTHIER-VILLARS (Mlle
Anatomie pathologique	(pr.s.ch.
	(ABELANET (R)
	(BUSSER (F)

	MM.
Anatomie pathologique	(CHOMETTE (G) (GOUYGOU (Ch)m.conf. (NEZELOFF (Ch.) (ORCEL (L) (PAILLAS (J)
Anesthésiologie	(KERN (E.) (VOURC'H (G) (BARBIER (P)
Bactériologie	(CHRISTOL (D) (Le MINOR (L) (TOURNIER (P)
Biochimie médicale	(BAULIEU Et.m.conf. (BOURILLON (R) (CARTIER (P) (DREYFUS (J.cl.) (GONNARD (P) (KRUH (J) (JEROME (H)
Biologie appliquée à l'Educa- tion Physique et aux Sports	PLAS (F)
Carcinologie	(BOIRON (M) (DENCIX (P) (MATHE (G) (SELIGMANN (M)
Dermato-Syphiligraphie	(CIVATTE (J) (DUPERRAT (B)
Electro-Radiologie	(LEDOUX-LEBARD (G) (BESSIS (M)
Hématologie	(BILSKI-PASQUIER (G) (DAUSSET (J) (DUHAMEL (G)
Histologie	(COUJARD (R)pr.s.ch. (MAROIS (M) (RACADOT (J)
Hydrologie	(BESANCON (F) (CORNET (A) (BOYER (J)pr.s.ch.
Hygiène	(BLANCHER (G) (CORRE-HURST (Mme L) (SAPIN-JALOUSTRE (H)
Maladies infectieuses	(BASTIN (R) (DUPONT (V)

MM.

Médecine légale	(DEROBERT (L)pr.s.ch. FOURNIER (E) GUENIOT (M) HADENGUE (A) ALBAHARY (C) PERTUISET (B) GRANJON (A) HERVET (E) Le LORIER (G) LEVY (J) MORIN (P) MUSSET (R) ROBEY (M) SENEZE (J) SUREAU (C) THOYER-ROZAT (J) BREGEAT (P) DUBOIS (A) SARAUX (H) JUDET (R) MEARY (R) POSTEL (M) RAMADIER (J) DEBAIN (J) PIALOUX (P) GOLVAN (Y) LAPIERRE (J) BARCAT (J) BINET (J.P) CAUCHOIX (J) CERBONNET (G) CHATELIN (C.L) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J) FLABEAU (F) GARBAY (M) GARNIER (H) (Cl.de)GAUDART-d'ALLA GERMAIN (A) LATASTE (J) LEVEQUE (B) LOYGUE (J) MERCADIER (M)
Médecine du travail	
Neuro-Chirurgie	
Obstétrique	
Ophtalmologie	
Orthopédie	
Oto-rhino-Laryngologie	
Parasitologie	
Pathologie chirurgicale	

	MM.
Pathologie chirurgicale	(NATALI (J)
	(PELLERIN (D)
	(PERROTIN (J)
	(ROBERT (H)
Pathologie exotique	(THOMERET (G)
	(SCHNEIDER (J)
	(BENHAMCU (J.P)
	(BERTHAUX (P)
	(BOIVIN (P)
Pathologie expérimentale	(CROSNIER (J)
	(HARTMANN (L)
	(LOEPER (J)
	(MAURICE (J)
	(MIKOL (Cl)
	(RICHTT (G)
	(AUSSANNAIRE (M)
	(BOUVIER (J)
	(BOUVRAIN (Y)
	(BRICAIRE (H)
	(BRISSAUD (H)
	(BROCARD (H)
	(BUGE (A)
	(CATINAT (J)
	(CHRETIEN (J)
	(COBLENTZ (B)
	(CONTAMIN (F)
Pathologie médicale	(COURY (C)
	(ETIENNE (J.P)
	(FREZAL (J)
	(FRITEL (D)
	(HENNEQUET (A)
	(HIMBERT (J)
	(HOUSSET (E)
	(LAROCHE (Cl)
	(LESOBRE (R)
	(MACREZ (C)
	(MOREAU (L)
	(NICK(J)
	(ROYER (P)
	(TOURNEUR (R)
	(WOLFROMM (R)
	(JOSEPH (R)
Pédiatrie-Puériculture	(LAFOURCADE (J)
	(LEPERCQ (G)
	(MANDE (R)

	MM.
Pédiatrie-Puériculture	{ MOZZICONACCI (P)
	{ POLONOVSKI (C)
	{ ROSSIER (A)
	{ VIALATTE (J)
Pharmacologie	{ BOISSIER (J)
	{ LECHAT (P)
	{ BARRES (G)
	{ DEJOURS (P)
Physiologie	{ DURAND (J)
	{ GIRARD m.conf.
	{ HUGELIN (A)
	{ SCHERRER (J)
	{ CHANTEUR (J)
	{ GOUGEROT (L)m.conf.
	{ pr.s.ch.
Physique médicale	{ GREMY (F.)m.conf.
	{ MILHAUD (G)
	{ PELLERIN (P)
	{ ROUCAYROL (J.Cl)
	{ TUBIANA (M) m.conf.
	{ KREIS (E)
Pneumo phtisiologie	{ MEYER (A)
	{ RENAULT (P)
Psychiatrie	{ PICHOT (P)
	{ DENIKER (P)
Psychiatrie infantile	{ DUCHE (D)
	{ FLAVIGNY (H)
	{ LAPRESLE (J)
Rhumatologie	{ DELBARRE (F)
	{ CERNEA (P)
Stomatologie	{ CHAPUT (Mme A.)m.c.agr.
	{ GRELLET (M)
	{ CHASSAGNE (P)
Thérapeutique	{ LAMOTTE (M)
	{ MARCHE (J)
	{ AUVERT (J)
Urologie	{ MOULONGUET (A)
	{ QUENU (L)

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES
DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
à titre permanent

	MM.
Anatomie	DEBEYRE (J).

MM.

Clinique chirurgicale	{ ABOULKER (P)	
	{ AMELINE (A)	pr.s.ch.
	{ VERNE (J.M)	
Clinique médicale	{ FERRAULT (M)	
	{ RAMBERT (P)	
	{ THIEFFRY (S)	
Clinique obstétricale	{ GRASSET (J)	
	{ MAYER (M)	
Clinique ophtalmologique	{ DESVIGNES (P)	
	{ OFFRET (G)	
Clinique oto-rhino-laryngolo- gique	MADURO (R)	
Clinique pédiatrique et pué- riculture	LAPLANE (R)	
Clinique psychiatrique	BARUK (H)	
Clinique urologique	KUSS (R)	

IV - PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie	HAUDUROY (P)	Pr.s.ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J)	Pr.s.ch.

V - CHARGES DE COURS D'HYGIENE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

Secrétaire général de la Faculté ..	M. LENA (J)	
Secrétaire principal	Mlle CHAINTREUIL (G)	
Conservateur en Chef de la Bi- bliothèque	} M.le Docteur HAHN (A)	
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine		
Conservateur		Mlle DUMAITRE (P)
	{ Mmes CONTET (J), FORGET (F)	
Bibliothécaires	{ Mlles LAURENT (H), Le NOIR (G)	
	{ QUIEVREUX (E)	

Par délibération en date du 9 decembre 1798,
l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les disser-
tations qui lui seront présentées, doivent être considé-
rées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend
leur donner aucune approbation ni improbation.

A la mémoire de mon Père,

A ma Mère,

A ma Femme,

et

A mes Enfants,

Aux miens et à mes Amis.

A Monsieur le Professeur FASQUELLE,

Professeur de Bactériologie à la Faculté
de Médecine de Paris,

Qui a bien voulu nous ins-
pirer cette thèse et nous
faire l'honneur d'en ac-
cepter la présidence,

Qu'il trouve ici l'expression
de notre profonde gratitude
pour l'enseignement clair
et vivant qu'il nous a
donné et pour la bien-
veillance avec laquelle
il nous a guidé au cours
de ce travail.

En hommage respectueux.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux au cours
de nos années d'Externat,

Monsieur le Professeur CADENAT,

Monsieur le Professeur FEVRE,

Monsieur le Professeur Robert DEBRE,

Monsieur le Professeur BARIETY,

Monsieur le Docteur BOLGERT,

Monsieur le Professeur PASTEUR
VALLERY-RADOT,

Monsieur le Professeur MICHAUX,

Monsieur le Professeur MOREAU,

Ainsi que

Monsieur le Professeur Agrégé DOMART,

Monsieur le Professeur Agrégé R. WOLFROMM.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux au cours
de nos années d'Internat,

Monsieur le Docteur J. LE MELLETIER,
Médecin de l'Hôpital de Versailles,

Qui nous a initié au métier
d'interne, et, par son
enseignement direct, nous
a inculqué les bases de
la médecine. Il est resté
pour nous plus qu'un maître;
Qu'il trouve ici l'expression
de notre profonde gratitude.

Monsieur le Docteur R. NEDEY,
Médecin-Réanimateur de l'Hôpital Foch,

Qui nous a si brillamment
démonstré que clinique tradi-
tionnelle et réanimation
scientifique savent se
compléter.

Monsieur le Docteur VALENTIN,

Chef du Laboratoire de l'Hôpital Inter-
communal de Créteil,

Et

Son Assistant,

Monsieur le Docteur SOLLE,

Qui nous ont accueilli dans
leur équipe de travail et
ont su nous faire profiter
de leur longue expérience
de la biologie.

Qu'ils trouvent ici un témoi-
gnage de notre gratitude
pour leur précieux ensei-
gnement et pour l'amicale
bienveillance qu'ils nous
ont prodiguée.

A tous nos autres Maîtres des Hôpitaux et
de la Faculté.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE
LA REACTION ANTIGENE-ANTICORPS APPLIQUEE AU
DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE
DES MALADIES INFECTIEUSES

-:-:-

INTRODUCTION

-:-

Lorsqu'un organisme entre en contact avec une substance étrangère dite antigénique, il élabore dans ses humeurs un anticorps spécifique de l'antigène qui lui a donné naissance. Cet anticorps va réagir électivement avec l'antigène causal, et avec lui seul ; cette réaction peut, dans certaines conditions, se manifester in vitro par un phénomène macroscopique facile à mettre en évidence.

Au cours de toute maladie infectieuse, l'agent infestant, qu'il soit bactérien, viral ou parasitaire, va se comporter comme un antigène ou plutôt comme une mosaïque d'antigènes, entraînant l'apparition dans l'organisme atteint d'anticorps spécifiques.

La détection de ces anticorps, leur titrage dans le sérum du malade, sont un des plus importants appoints du laboratoire au diagnostic clinique des maladies infectieuses.

Depuis les premiers travaux de METCHNIKOFF, RICHEL, BORDET, pour n'en citer que quelques uns, la sérologie a été en se perfectionnant d'année en année, ainsi que la compréhension du mécanisme de la réaction antigène-anticorps.

C'est pourquoi il nous a paru intéressant de tenter de faire le point des connaissances et des acquisitions nouvelles en ce domaine.

Nous étudierons donc successivement :

- 1°- L'état actuel des théories concernant le mécanisme intime de l'union d'un antigène et d'un anticorps in vitro,
- 2°- Les différentes manifestations in vitro de cette union,
- 3°- La sérologie des maladies bactériennes,
- 4°- Les applications à la virologie des réactions sérologiques classiques,
- 5°- et très brièvement leurs applications à la parasitologie.

Seules seront envisagées les affections susceptibles d'être rencontrées sous nos climats, et pour chaque maladie, l'accent sera mis sur les réactions que le clinicien peut demander de façon courante au laboratoire.

PREMIERE PARTIE

--

MECANISME DE L'UNION ANTIGENE-ANTICORPS

--

Rappelons d'abord la définition des antigènes et des anticorps, ainsi que certaines de leurs propriétés :

- Un antigène est une substance qui, introduite dans l'organisme, est susceptible d'y provoquer la formation d'anticorps et de réagir spécifiquement avec lui. Mais seule la fonction haptène est le support de la spécificité ; molécule de taille relativement réduite, souvent de nature polysidique, l'haptène ne représente qu'une faible partie de l'énorme édifice moléculaire qu'est un antigène.
- Les anticorps sont de grosses molécules protidiques, ce sont les propres globulines du sujet à qui l'antigène a été inoculé. Les analyses physiques ou chimiques aussi fines soient-elles, ne permettent pas de déceler ce qui confère à la globuline la "propriété anticorps" ; c'est vraisemblablement, ainsi que nous le verrons, la structure secondaire de la protéine qui porte la marque de la spécificité. L'anticorps pourra s'unir soit avec l'antigène dans sa totalité (corps microbien, particule virale), soit avec l'haptène seul.

La réaction in vitro de l'antigène et de l'anticorps passe schématiquement par deux stades.

1°- LE PREMIER STADE

Le premier stade est rapide, presque immédiat, mais inapparent ; il est commun à toutes les réactions antigène-anticorps, c'est l'union des molécules d'antigène et d'anticorps. Pour expliquer la spécificité de cette réaction, on fait appel à la notion de complémentarisme structural entre le groupement déterminant de l'antigène et la configuration spatiale de l'anticorps : l'anticorps récepteur est adapté avec un haut degré de précision à la surface de l'antigène qui lui a donné naissance.

La surface d'une grosse molécule est caractérisée par la présence de groupements atomiques chargés positivement ou négativement ; ils créent des champs électriques localisés au voisinage immédiat de la molécule et actifs seulement à très faible distance. Quand deux molécules s'approchent de près, ces champs électriques, s'ils sont de signe opposé créent une attraction.

Dans l'énorme molécule qu'est un anticorps, ces petites charges électriques sont en grand nombre, et ont une disposition spatiale bien définie.

Lorsque deux molécules entrent en contact, si la disposition de ces charges électriques à leur surface est telle que de multiples points d'attraction se créent, ces deux molécules vont adhérer fortement.

Quelle est la nature des forces de liaison ainsi mises en jeu ? elles appartiennent toutes à la physico-chimie classique et sont de 4 types :

a) Il peut s'agir de forces ioniques, entre la charge positive d'un $(-\text{NH}_3^+)$ et la charge négative d'un $(-\text{COO}^-)$ par exemple.

b) Les molécules qui ont un moment électrique dipolaire peuvent créer des forces de liaison dipôle-dipôle ou dipôle-ion, mais pour PAULING, CAMPBELL et PRESSMAN, ce type de liaison jouerait assez peu dans l'union des antigènes et des anticorps, et le rôle principal serait dévolu aux deux autres.

c) Les forces de Vander Waals sont des forces d'attraction électronique résultant de l'inter-action mutuelle des électrons et des noyaux des molécules : elles ont leur origine dans l'attraction électro-statique des noyaux d'une molécule pour les électrons d'une autre, incomplètement compensée par la répulsion des noyaux entre eux et des électrons entre eux. Elles ne jouent qu'à une faible distance de l'ordre de 0,5 millimicron. Elles sont très faibles et ne deviennent importantes que lorsque de larges surfaces moléculaires sont au contact, permettant la mise en jeu de plusieurs centaines de ces forces.

d) Les "liaisons hydrogène" ont également un rôle important, par exemple entre le groupe carbonyle $> \text{C} = \text{O}$ et le groupe $> \text{NH}$ de deux liaisons peptidiques, où l'hydrogène est lié à la fois aux deux atomes, d'oxygène et d'azote.

Plus faible que la liaison ionique ordinaire, la liaison hydrogène est plus forte que les forces d'attractions de Van der Waals.

Ainsi, aucune de ces forces n'est spécifique et la spécificité dépend uniquement de l'existence de deux zones dont la structure est complémentaire sur la surface des molécules d'antigène et d'anticorps, de façon à permettre la mise en jeu d'un grand nombre de liaisons.

Il semble probable (HOOKER et BOYD) que les surfaces réactives correspondantes soient, pour l'antigène une saillie, pour l'anticorps une dépression. Et l'attraction est d'autant plus puissante que les surfaces réactives sont plus grandes et s'adaptent plus étroitement l'une à l'autre.

Ceci explique également les réactions croisées d'un anticorps avec un antigène voisin de celui qui a suscité son apparition : il suffit que la surface réactive des deux antigènes aient une configuration suffisamment voisine, pour que des liaisons stables puissent se développer.

La rapidité de ce premier stade de la réaction a été expliquée par BOYD : du fait du mouvement brownien, le déplacement d'une molécule anticorps est tel que les probabilités sont très grandes pour qu'elle rencontre très rapidement les molécules antigènes, au moins au début ; par la suite, la vitesse de combinaison semble décroître exponentiellement.

2°- LE DEUXIEME STADE DE LA REACTION

Parfois le premier stade reste le seul : l'antigène a été neutralisé par l'anticorps, mais aucun phénomène macroscopique ne vient visualiser la réaction.

Mais le plus souvent, ce deuxième stade apparaît, plus ou moins vite, se manifestant par

une précipitation ou par une agglutination des complexes antigène-anticorps préalablement formés.

Ce deuxième stade est moins "spécifique" que le premier, car de nombreux facteurs non immunologiques vont l'influencer : le pH, la température, la concentration en électrolytes, la nature de l'antigène et de l'anticorps.

Deux théories, qui en fait se complètent, tentent d'expliquer ce phénomène visible.

a) La théorie du réseau, ou de l'alternance, suppose la multivalence de l'antigène et de l'anticorps ; elle est soutenue par la majorité des immunologistes anglo-saxons (HEIDELBERGER (55), PAULING (85), MARRACK).

Les molécules d'antigène qui se sont fixées dans le premier temps sur l'anticorps, gardent encore des valences libres qui leur permettront d'accrocher d'autres molécules d'anticorps. Ainsi se constituent peu à peu des amas de volume croissant formant un véritable "réseau", où alternent des molécules d'antigène et d'anticorps.

Comment s'explique la précipitation ?

Normalement, les molécules d'anticorps et d'antigène sont à l'état colloïdal, à leur surface se trouvent des groupes polaires hydrophiles et chaque particule est entourée d'une sorte d'"atmosphère d'eau" plus ou moins fortement attachée, qui la maintient en solution.

Les particules d'antigène, en s'accolant sur la molécule d'anticorps viennent masquer ces groupements polaires hydrophiles, de sorte que la molécule devient hydrophobe et précipite. De fait, la plus grande partie du

précipité est formée par l'anticorps.

b) La théorie de l'occlusion

Pour BOYD (12), la précipitation ou l'agglutination résulte certes de la neutralisation respective des groupements polaires hydrophiles, mais il insiste sur le fait que, dans la formation du réseau, l'enchevêtrement des molécules inclut à l'intérieur du complexe des groupements polaires restés libres, mais devenus inefficaces, puisque isolés du milieu.

Cette "occlusion" de groupements hydrophiles renforce encore l'insolubilité du complexe.

ETUDE QUANTITATIVE DE LA REACTION - LE PHENOMENE DE ZONE

Des études quantitatives sur la réaction antigène-anticorps ont été faites, essentiellement à partir de réactions de précipitation spécifiques, par HEIDELBERGER et son école.

En faisant réagir sur une quantité fixe d'anticorps une quantité croissante d'antigène, on peut ainsi construire des "courbes de précipitation spécifique" en portant en abscisses la quantité d'antigène et en ordonnées la quantité de précipité formé.

On détermine ainsi 3 zones :

- a) dans la zone de précipitation maxima, il n'y a plus ni antigène ni anticorps dans le surnageant : c'est la zone d'équivalence.
De part et d'autre de ce point on trouve :
- b) une zone d'excès d'anticorps (partie ascendante de la courbe) c'est la "prézone",
- c) une zone d'excès d'antigène (partie descendante de la courbe : c'est la "post-zone".

Ce phénomène de zone est encore plus net pour les réactions d'agglutination, celle-ci ne se produisant que dans les tubes où le rapport antigène-anticorps est optimum. Le phénomène est important à connaître dans l'interprétation d'une réaction sérologique, pour ne pas conclure à tort à une réaction négative.

La technique de DEAN et WEBB (28) met d'ailleurs bien en évidence cette notion de "rapport optimum" ("optimal ratio" des auteurs anglo-saxons) pour lequel la floculation apparaît dans le délai le plus court. Ce rapport optimum, qui correspond au point d'équivalence, est une constante pour un système antigène-anticorps donné.

Toutefois, si un rapport optimum est nécessaire pour la neutralisation complète de l'antigène par l'anticorps, il ne faudrait pas en conclure que cette réaction se fait dans des proportions invariables, comme une réaction de chimie classique.

Pour BORDET, en effet, elle est comparable à un phénomène d'absorption, dans lequel les substances sont unies en proportions variables.

Cette combinaison en proportions variables explique le phénomène de Danysz : si on ajoute en une seule fois à une toxine une quantité équivalente d'antitoxine, elle est totalement neutralisée. Si on l'ajoute peu à peu, le mélange final est toxique : la première addition de toxine a capté la totalité des anticorps disponibles.

Ainsi, la neutralisation d'un antigène par un anticorps obéit à des lois bien définies ; mais, suivant la nature de l'antigène et les conditions techniques de la réaction, cette neutralisation donne lieu à des manifestations extrêmement diverses qui masquent

l'indiscutable unité de la réaction antigène-anticorps.

Ce sont ces différentes manifestations que nous allons étudier maintenant.

-:-

DEUXIEME PARTIE

-:-

MANIFESTATIONS IN VITRO DE L'UNION ANTIGENE-ANTICORPS

-:-

L'apparence que revêt in vitro l'union Antigène-Anticorps est en effet extrêmement diverse.

Tantôt des bactéries sont agglutinées, tantôt les capsules de certains germes subissent un gonflement ; ailleurs des molécules protidiques précipitent. Dans de nombreux cas, la fixation de complément sur le complexe Antigène-Anticorps est nécessaire et elle peut alors soit entraîner un phénomène directement visible, soit nécessiter un artifice (hémolyse) pour être mise en évidence. Ailleurs enfin, c'est l'absence d'effet pathogène d'un complexe qui traduira la neutralisation de l'Antigène par l'Anticorps.

Ce sont ces différentes techniques sérologiques que nous allons passer en revue.

o

-- I°- Certaines réactions sont simples et rapidement décelables, ce sont les réactions de précipitation et d'agglutination.

- REACTION DE PRECIPITATION (OU DE FLOCCULATION)

Elle fait appel à un antigène moléculaire, soluble. C'est KRAUS, le premier, qui, en 1897, a observé un précipité en mettant en contact des filtrats de culture de différents germes avec l'anti-sérum correspondant.

Elle peut s'étudier par différentes techniques, qui correspondent à des buts différents.

a) La précipitation simple ou flocculation
en est la plus simple : c'est le précipité qui apparaît lorsqu'on mélange une solution d'antigène et une solution de l'anticorps correspondant.

C'est d'ailleurs par cette technique qu'ont été faites la plupart des études concernant la réaction Antigène-Anticorps et dont nous avons parlé dans le précédent chapitre. En particulier c'est ainsi que HEIDELBERGER a pu étudier les courbes quantitatives de précipitation, en ajoutant à une quantité fixe d'anticorps des quantités variables d'antigène. La méthode de RAMON, utilisée essentiellement pour le titrage de l'antitoxine diphtérique en présence de toxine, est très voisine ; mais ici c'est la quantité d'antigène qui est fixe.

On a déjà vu, que par cette méthode, le précipité peut ne pas apparaître si les rapports entre les concentrations d'antigène et d'anticorps sont défavorables (phénomène de zone).

b) La méthode du disque ou Ring-test permet d'éviter ces réactions négatives. Elle consiste à déposer, dans un tube fin, une goutte de la solution d'Antigène à la surface de la solution d'Anticorps, et sans mélanger les deux. L'antigène diffuse progres-

sivement, réalisant une zone de concentration décroissante dans la solution d'Anticorps. Un disque de précipitation se produit à la limite de deux solutions lorsque le rapport Antigène-Anticorps est optimum.

Cette technique est très utilisée en bactériologie, nous n'en citerons que quelques applications parmi les plus importantes :

- le diagnostic de la morve, en pratique vétérinaire, où le sérum de l'animal suspect est mis en contact d'un extrait de bacille morveux.
- la réaction d'Ascoli permet le diagnostic post mortem chez un animal suspect de charbon. On utilise comme antigène un broyat de rate ou de foie de l'animal ; s'il contenait du bacille charbonneux, il se produit un anneau blanc au contact du sérum anticharbonneux.
- le diagnostic et le typage des Streptocoques ; on prépare l'extrait chlorhydrique de Lancefield du germe que l'on veut étudier et on le teste en présence des antisérums des différents groupes de la classification de LANCEFIELD.

c) La diffusion en milieu gélifié permet l'analyse de mélanges de plusieurs antigènes et de plusieurs anticorps.

Dans la technique de OUDIN (83), en tubes, le sérum à analyser est mélangé à de la gélose ; après solidification, la solution antigénique est déposée à la surface et diffuse ; il apparaît autant de disques de précipitation qu'il y a de systèmes Antigènes-Anticorps en présence.

OUCHTERLONY (82) opère en boîtes de Pétri. Le sérum et les antigènes sont déposés à la

surface de la gélose ; après diffusion, on obtient des lignes de précipitation correspondant à chaque système Antigène-Anticorps. Cette technique est couramment utilisée pour affirmer la pureté d'une solution d'Antigène.

Dans l'immuno-électrophorèse de Grabar et Williams (51) on isole dans un premier temps les constituants antigéniques d'un sérum, par électrophorèse sur gélose et dans un deuxième temps les antigènes ainsi isolés diffusent et forment des lignes de précipitation avec les anticorps de l'immun-sérum étudié.

- REACTION D'AGGLUTINATION

Elle fait appel à un antigène particulaire, visible au microscope : dans le cas particulier, il s'agit des corps microbiens eux-mêmes.

La réaction se traduit par une agglutination des bactéries, soit totale, formant de gros amas, soit partielle, formant des amas plus petits entre lesquels persistent des éléments isolés. Elle peut être observée à l'oeil nu, ou mieux, au microscope.

A la simplicité pratique de cette réaction qui ne nécessite pas la préparation d'un antigène purifié, s'oppose sa complexité théorique.

En effet, la réaction est plus sensible à de nombreux facteurs non spécifiques (température, pH, concentration en électrolytes, concentration en protéines non spécifiques).

Par ailleurs les bactéries représentant de véritables "mosaïques d'antigènes", des réactions croisées vont être possibles, entre des germes possédant un ou plusieurs fac-

teurs antigéniques communs. Ces réactions de coagglutination peuvent être gênantes pour le diagnostic sérologique d'une maladie.

En général, la sérologie quantitative permettra de trancher ; parfois, cependant, il faudra "saturer" le sérum pour éliminer les réactions avec les antigènes autres que l'antigène spécifique du germe étudié.

Dans certains cas pourtant, les réactions antigéniques croisées sont utilisées, telle l'agglutination du proteus OX19 par le sérum de malades atteints de Rickettsioses.

La réaction d'agglutination peut être utilisée dans les deux sens :

a) Identification d'un germe par un sérum connu : c'est la séro-agglutination ; nous en citerons comme exemple l'identification des Salmonelles, des Shigelles, des colibacilles pathogènes des gastro-entérites infantiles, des méningocoques ... On utilise naturellement des sérums-tests aussi spécifiques que possible et on procède habituellement à l'agglutination sur lame, en émulsionnant une colonie de la culture à étudier dans une goutte de sérum-test.

b) A l'inverse, le séro-diagnostic d'agglutination consiste à rechercher la présence d'anticorps agglutinants en mettant en présence le sérum du malade et des souches bactériennes d'activité antigénique connue.

On utilise la méthode des dilutions, afin d'avoir une réponse quantitative permettant d'apprécier la teneur du sang en anticorps : à des tubes contenant une quantité fixe de suspension antigénique, on ajoute des dilutions successives du sérum à examiner ($1/2 - 1/4 - 1/8 - 1/16 \dots$) et on recherche la plus grande dilution qui donne une agglu-

mination franche. On exprime le résultat en disant que la réaction est, par exemple, positive au 1/32, ou que le titre du sérum est 32.

Comme pour la réaction de précipitation, un phénomène de zone est possible, avec réaction négative aux fortes concentrations de sérum, alors qu'elle se positive pour des dilutions plus élevées. Ce phénomène peut faire croire à une réaction négative si l'on ne prend pas la précaution de préparer un nombre suffisant de dilutions.

- Très voisin de l'agglutination est le phénomène du GONFLEMENT CAPSULAIRE, qui permet de déterminer le type d'un pneumocoque grâce à un sérum spécifique. On mélange sur lame à une goutte de sérum, une goutte de suspension du germe (de préférence à partir de sérosité péritonéale de Souris inoculée). L'augmentation considérable du volume de la capsule du germe est très nettement observée au microscope.

-- 2° - Certaines réactions nécessitent la présence de complément

Le complexe que forment ensemble l'Antigène et l'Anticorps fixe un autre facteur sérique non spécifique, le complément, ou alexine ; sa présence peut être nécessaire soit pour rendre une réaction décelable, soit pour en changer les modalités (agglutination sans complément, lyse en présence de complément).

a) C'est le cas pour le phénomène de la bactérolyse. PFEIFFER, le premier, en 1895, avait constaté que les vibrions cholériques injectés dans le péritoine d'un Cobaye préparé étaient agglutinés, puis immobilisés et

enfin lysés : c'est le phénomène de la vibriolyse. Ce dernier temps nécessite la présence de complément, car si la réaction est faite "in vitro", à l'aide d'immun-sérum chauffé à 56°, donc décomplémenté, seule se produit l'agglutination. L'adjonction d'un sérum frais quelconque entraîne la lyse.

C'est un phénomène voisin qui a été observé par NELSON sur les tréponèmes de la syphilis: en présence de sérum de syphilitique et de complément, ceux-ci sont agglutinés et surtout immobilisés. C'est la base du Test d'Immobilisation des Tréponèmes de Nelson, dont l'intérêt n'est plus à dire.

En dehors de la syphilis, ce test n'a que peu d'applications diagnostiques, car rares sont les germes qui peuvent être lysés.

b) La réaction d'opsonisation demande elle aussi la présence de complément ; c'est la phagocytose des bactéries par les polynucléaires sous l'action des anticorps homologues et en présence de complément. Les anticorps et le complément n'agissent pas sur les polynucléaires, mais sur la bactérie pour la sensibiliser et en favoriser la phagocytose.

Si l'intérêt théorique de cette réaction est considérable, montrant un des mécanismes de défense de l'organisme contre les germes, son intérêt pratique est beaucoup plus limité pour le diagnostic des maladies.

c) Beaucoup plus récemment, NELSON a mis en évidence un phénomène voisin de la réaction d'opsonisation. En présence du sérum de malades syphilitiques et de complément, le tréponème adhère aux hématies présentes dans le milieu : test d'immuno-adhérence, puis disparaît sous l'action de la phagocytose par les leucocytes :

adhérence-disparition. Ce phénomène a pu être également observé avec d'autres bactéries.

La fixation du complément n'est pas indispensable à l'union de l'antigène et de l'anticorps, mais elle est nécessaire pour qu'apparaissent certains phénomènes comme la lyse ou l'opsonisation. En fait, comme l'a supposé puis démontré BORDET, c'est un phénomène très général, et s'il existe du complément dans le milieu, il va obligatoirement se fixer sur le complexe antigène-anticorps.

Pour HEIDELBERGER, les liaisons qui sont susceptibles d'unir le complément aux anticorps, et peut-être aux antigènes ne seraient stables que dans les agrégats moléculaires des complexes.

Et c'est encore BORDET qui le premier, sut mettre à profit cette fixation du complément pour détecter l'union de l'antigène et de l'anticorps dans les cas où cette union ne se traduit pas spontanément par un phénomène macroscopique.

--3°- Artifices techniques pour la mise en évidence de la réaction Antigène-Anticorps

L'union d'un antigène et d'un anticorps peut ne pas se traduire par un phénomène visible : précipitation, agglutination, lyse. Cela peut être dû au faible pouvoir de l'antigène, au caractère même du complexe antigène-anticorps formé qui reste soluble, ou à des propriétés particulières des anticorps : anticorps univalents, ne formant pas de réseaux.

Deux types d'artifices techniques sont employés pour rendre visible l'union de l'antigène et de l'anticorps :

- la réaction de fixation du complément, type Bordet (encore appelée réaction d'hémolyse)
- la fixation de l'antigène sur un support inerte.

a) LA REACTION DE DEVIATION (OU FIXATION) DU COMPLEMENT est une des méthodes les plus généralement employées pour détecter la présence d'un anticorps.

Le complément, se fixant sur le complexe Antigène-Anticorps ne pourra plus être utilisé par un deuxième système immunologique lorsque les antigènes et les anticorps du premier système se seront unis.

Le révélateur employé est en général un système hémolytique : hématies + sérum anti-hématies : en présence de complément, il se produit une hémolyse, en son absence il n'y en a pas.

Le principe de la technique est simple :

- dans un premier temps, le sérum à examiner est mis en présence de l'antigène homologue et de complément ;
- dans un deuxième temps, on ajoute le système hémolytique.

La réaction est positive quand il n'y a pas hémolyse (car le complément a été fixé par le système antigène-anticorps et a disparu du milieu). La réaction est négative quand il y a hémolyse : le complément non utilisé dans le premier temps, participe à la deuxième réaction.

Il est préférable, pour la réaction, d'éliminer l'activité complémentaire du sérum suspect par chauffage à 56° et d'ajouter le complément à dose fixe.

C'est à la syphilis que cette réaction a d'abord été appliquée ; elle est actuellement utilisée pour le diagnostic de la plupart des viroses, rickettsioses et parasitoses où la taille de l'élément pathogène empêche de constater son agglutination.

b) LA FIXATION DE L'ANTIGÈNE OU DE L'HAPTÈNE SUR UN SUPPORT INERTE, permet d'accroître la masse des agrégats formés, donc d'en rendre l'agglutination visible.

Plusieurs supports sont employés :

- le cholestérol, est le plus ancien des adjuvants qui aient été préconisés. La plupart des réactifs lipidiques utilisés dans la sérologie syphilitique classique en contiennent ; les lipides antigéniques se fixent sur les molécules du cholestérol et les réactions dites de "floculation" ne sont en fait que des réactions d'agglutination des micro-cristaux de cholestérol.

- le collodion est surtout utilisé en parasitologie.

- les hématies lavées, de Mouton en général, sont de plus en plus utilisées en sérologie comme support passif de l'antigène.

Dans un premier temps, on absorbe à la surface du globule rouge l'antigène ou l'haptène microbien. Seuls les haptènes polysaccharidiques peuvent s'absorber par simple contact ; pour les substances protidiques, il faut au préalable traiter les hématies par l'acide tannique (méthode des hématies tannées, de Boyden).

Dans un deuxième temps, c'est sur l'hématie, support passif de l'antigène que sera étudiée l'action de l'anticorps spécifique ;

Deux réactions utilisent cet artifice :

- La réaction d'hémagglutination passive se traduit par la simple agglutination des hématies porte-antigène sous l'action de l'anticorps, sans que le complément entre en jeu. Le type en est la réaction de Middlebrook et Dubos dans la tuberculose.

- Moins utilisée est la réaction de conglutination passive, utilisant également des globules rouges, supports passifs de l'antigène. L'adjonction au milieu de complément et de sérum de boeuf accroît la sensibilité de l'hémagglutination. C'est l'absorption sur le complexe antigène-anticorps de l'un des constituants du sérum de boeuf (conglutinine ou auxilysine) qui favorise l'agglutination.

o

--4°- Réactions d'inhibition et de neutralisation

L'union de l'antigène et de l'anticorps va également se traduire par l'inhibition de certaines propriétés particulières de l'antigène, ou par la neutralisation de son pouvoir toxique in vivo.

Trois types de réaction utilisent cette propriété pour rechercher les anticorps d'un sérum suspect, ce sont :

- la recherche des antistreptolysines
- l'inhibition de l'hémagglutination
- la neutralisation du pouvoir pathogène in vivo (test de séro-protection)

a) Les streptocoques hémolytiques possèdent parmi tant d'antigènes, une hémolysine O, qui est active sur des hématies in vitro. La recherche de l'inhibition de l'hémolyse par un sérum contenant l'anticorps spécifique, c'est-à-dire l'antistreptolysine O, est donc facilement réalisable.

b) HIRST a montré, en 1941, que le virus grippal agglutinait les hématies normales. Cette réaction d'hémagglutination que donnent d'ailleurs de nombreux autres virus est inhibée spécifiquement par le sérum anti-viral correspondant. Nous reviendrons sur le mécanisme de cette réaction d'inhibition de l'hémagglutination à propos des virus.

Insistons sur le fait qu'il ne faut pas confondre cette réaction, où le virus (antigène) agit directement sur les globules rouges et les agglutine, avec la réaction d'hémagglutination passive citée plus haut : le globule n'est alors que le support passif d'un antigène, et c'est l'anticorps qui entraîne l'agglutination.

c) Les réactions de neutralisation consistent à inoculer à un animal sensible un mélange d'antigène (toxine, virus ...) et de sérum dans lequel on recherche l'anticorps correspondant. Si l'anticorps est présent, il aura neutralisé l'antigène et l'effet pathogène n'apparaîtra pas : l'animal aura été protégé.

Cette réaction a trouvé sa principale utilisation en virologie. Une variante pratique en est représentée par la neutralisation du pouvoir cyto-pathogène de certains virus étudiés sur culture cellulaire in vitro.

--5°- L'emploi des anticorps fluorescents

Pour terminer cette étude des divers types de réaction antigène-anticorps applicable au diagnostic des maladies infectieuses, nous insisterons sur une méthode dont l'introduction est récente ; c'est la méthode des anticorps fluorescents de COONS (19,20,21,22).

Cette technique consiste à examiner au microscope, en lumière ultra-violette, un complexe antigène-anticorps rendu fluorescent par marquage de l'anticorps. Le composé utilisé est, en règle, l'isothiocyanate de fluorescéine.

Deux procédés sont utilisables : dans la méthode directe c'est le sérum lui-même, antimicrobien ou antiparasitaire, qui est couplé au dérivé fluorescent. Lorsqu'on met en contact un frottis de germes et le sérum anti-correspondant, la réaction antigène-anticorps se traduit par une fluorescence apparaissant au niveau où le complexe s'est formé. La méthode indirecte consiste à révéler la formation d'un complexe antigène-anticorps au moyen d'une anti-gamma-globuline fluorescente spécifique du sérum utilisé. La méthode directe servira surtout à l'identification d'un germe ou d'un virus, au sein d'un mélange par exemple, alors que la technique indirecte est surtout appliquée au diagnostic sérologique.

L'immunofluorescence permet non seulement l'identification, mais aussi la localisation d'un antigène sur une coupe histologique ou sur un frottis de cellules. Les préparations tissulaires ne doivent pas subir de traitement risquant d'altérer les propriétés immunologiques de l'antigène ; on utilise soit des frottis de cellules, soit des coupes faites au microtome à congélation, et fixées à l'acétone.

Les applications de cette méthode sont multiples; nous n'en citerons que quelques exemples :

- en virologie, le diagnostic rapide d'Herpès (7)
- en bactériologie, l'identification rapide d'un germe au milieu d'une flore variée : Salmonelles, colibacilles pathogènes dans une selle de nourrisson (109-115), recherche de Streptocoque hémolytique dans la gorge

(53), du bacille de Bordet-Gengou ; identification du Gonocoque, séro-diagnostic de la syphilis (111).

- en parasitologie, différenciation entre amibes pathogènes et non pathogènes (50).

Cette technique pose cependant un certain nombre de problèmes :

- le marquage de la globuline anticorps à la fluorescéine est assez délicat techniquement ;
- il faut éliminer les réactions non immunologiques de la protéine fluorescente avec le matériel à tester, de même que les réactions immunologiques croisées avec des agents non pathogènes.

C'est néanmoins une technique dont le champ d'action ne fait que s'agrandir, un de ses avantages majeurs étant sa rapidité ; ainsi, l'identification d'un coli-pathogène dans une selle ne demande qu'une demi-heure environ, alors que par les méthodes classiques de coproculture, il faut 24 à 48 heures.

o

--6°- Réactions allergiques cutanées

A côté des réactions in vitro, l'existence d'anticorps chez un sujet peut être décelée par les phénomènes d'hypersensibilité ou d'allergie que déclenche in vivo, dans certaines conditions, la réaction antigène-anticorps : c'est la recherche d'une sensibilisation cutanée par l'intra-dermo-réaction. L'introduction dans le derme d'une substance antigénique va entraîner l'apparition d'une tuméfaction érythémateuse ortiée, si le sujet est porteur des anticorps spécifiques.

a) La réaction peut être immédiate, survenant dans les minutes qui suivent l'injection. Les anticorps dont elle révèle l'existence sont

présents dans le sang circulant, car ils peuvent être transmis aux téguments d'un organisme normal (selon la technique de PRAUSNITZ-KUSTNER), mais ils ne peuvent pas être mis en évidence dans ce sérum par précipitation ou déviation de complément.

Ces réactions sont utilisées pour le diagnostic de certaines parasitoses qui donnent une sensibilisation cutanée spécifique.

b) La réaction peut être retardée, n'apparaissant que deux jours et plus après l'introduction de l'antigène. Le type en est l'intra-dermo-réaction à la tuberculine.

o

--7°- D'autres réactions cutanées ont été proposées, faisant intervenir un mécanisme différent : la neutralisation in vivo d'une toxine par l'antitoxine spécifique.

Trois réactions de neutralisation cutanée sont décrites :

- la réaction de Schick, dans la diphtérie, consiste à injecter par voie intra-dermique 1/50 de D.M.M. de toxine diphtérique. La réaction est positive lorsque le sujet ne possède pas d'antitoxine dans son sérum ; elle est négative si le sujet est immunisé contre la maladie.

- de même, la réaction de Dick permet d'étudier la réceptivité ou non d'un sujet à la scarlatine.

- toujours dans la scarlatine, l'injection intra-dermique de sérum de convalescent, chez un scarlatineux en pleine évolution, détermine l'extinction de l'exanthème : c'est le phénomène de Schultz et Charlton.

Ainsi, multiples sont les manifestations de l'union d'un antigène avec l'anticorps spécifique. Au fur et à mesure que furent découvertes ces diverses manifestations, on a désigné l'anticorps en jeu dans chacune d'elles par un nom particulier : antitoxine, hémolysine, agglutinine, précipitine, sensibilisatrice (déviant le complément), anticorps neutralisant, immobilisine ...

Que cache cette apparente diversité ?

Une théorie unitaire des anticorps a été émise : l'anticorps serait unique ; seule varierait le mode de révélation, fonction du réactif utilisé et des conditions techniques dans lesquelles on opère.

Une telle conception ne doit pas être acceptée sans réserve. En effet, un germe se présente comme une mosaïque d'antigènes, par conséquent plusieurs anticorps peuvent se former en même temps, en réponse à l'introduction de ces antigènes complexes.

D'ailleurs, l'étude des anticorps, dans la syphilis, par exemple, ou dans les maladies à virus, montre que leur date d'apparition et de disparition n'est pas la même pour tous.

C'est ainsi que, pour le Tréponème, les réagines apparaissent avant les immobilisines.

Il semble donc bien exister une pluralité d'anticorps pour une même maladie.

TROISIEME PARTIE

-:-

APPLICATION DE CES REACTIONS AU DIAGNOSTIC DES PRINCIPALES MALADIES BACTERIENNES

-:-

LES INFECTIONS TYPHO-PARATYPHIQUES (BASTIN (3))

I°- Le séro-diagnostic O et H :

Le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde représente la première application du phénomène de l'agglutination d'un germe microbien par le sérum d'un malade. C'est en 1896 que WIDAL décrivit la technique qui porte son nom : elle consistait à rechercher l'agglutination de germes vivants repiqués la veille, par le sérum du malade à des dilutions croissantes.

Du fait de la variabilité des souches, d'un laboratoire à l'autre, on a substitué à la technique de WIDAL le séro-diagnostic qualitatif de Félix, qui permet la recherche des agglutinines O et H, grâce à l'emploi de suspensions spécifiques d'antigène, soit alcoolisée (O), soit formolée (H). Les émulsions O et H actuellement utilisées sont parfaitement stables, préparées à l'aide de souches connues.

Rappelons brièvement la technique de cette réaction.

Dans un premier temps, on fait une réaction qualitative d'orientation. On teste, avec une dilution au 1/100 et au 1/200 du sérum suspect, les émulsions d'antigène O et d'antigène H des 4 souches : Eberth, Para A, Para B et Para C. La lecture est faite après centrifugation de 5 minutes.

Dans un deuxième temps, si l'une de ces 4 souches a été agglutinée, on recommence l'opération en poussant les dilutions du sérum pour avoir le titre des agglutinines. L'agglutination H est lue au bout de 2 heures (agglutinats floconneux, faciles à dissocier) ; l'agglutination O est lue au bout de 24 heures (fins flocons ne se dissociant pas).

Interprétation des résultats.

• Schématiquement :

L'agglutination O, la plus précoce, apparaît du 6^e au 12^e jour de la maladie ; elle n'a de valeur qu'au 1/100 et au-delà. Le taux limite augmente lentement, se stabilise généralement vers 1/200-1/400, puis commence à décroître à partir du 20^e au 30^e jour pour disparaître en 2 à 3 mois.

L'agglutination H apparaît entre le 8^e et le 15^e jour. Son taux maximum atteint et peut dépasser le 1/1000, il ne diminue que lentement, pouvant persister des années.

- Chez un vacciné récent (moins de 6 mois), l'agglutination H s'observe généralement au taux de 1/100 à 1/200 alors que l'agglutination O disparaît dès le 3^e mois. L'agglutination H peut donc être d'interprétation délicate chez un vacciné, d'autant que des coagglutinations H sont possibles ; elle peut même se réveiller à l'occasion d'une pyrexie banale.

C'est dire que chez le vacciné, la constatation d'une agglutination O est indispensable au diagnostic.

- Une agglutination O peut exister sans agglutination H.

- Il est possible, bien que très rare, qu'aucune agglutination n'apparaisse au cours de la fièvre typhoïde même non traitée, d'où l'intérêt des autres modes de diagnostic biologique.

- Quant au traitement par le chloramphénicol, il semble surtout retarder ou empêcher l'apparition de l'agglutination O.

Dans tous les cas douteux, la constatation essentielle, pour étayer le diagnostic d'une fièvre typhoïde est la progression du taux des agglutinines lors d'examens comparatifs pratiqués à 8 jours d'intervalle.

2°- Le séro-diagnostic Vi

Il met en évidence des agglutinines spécifiques d'un antigène spécial, l'antigène Vi, supporté par le bacille d'Eberth et par quelques souches de bacille paratyphique.

Toute agglutination positive pour une dilution de sérum égale ou supérieure à 1/10 doit être examinée attentivement : le sujet est sans doute porteur de germes et on doit pratiquer un examen de selles, répété à 8 jours d'intervalle.

Le séro-diagnostic Vi peut également être positif chez un convalescent de fièvre typhoïde de moins de 2 mois, chez 5 à 10 p. cent des vaccinés, ainsi qu'au cours de certaines infections, comme le paludisme.

3°- L'hémodiagnostic de Brumpt

C'est une micro-méthode d'agglutination. Elle utilise une goutte de sang prélevée extemporanément et mélangée sur lame avec une goutte d'émulsion microbienne colorée au bleu de Méthylène. Une réaction positive donne une image en cocarde.

En résumé :

- l'hémodiagnostic n'est qu'une méthode d'orientation
- le séro-diagnostic Vi est surtout utile à la recherche des porteurs de germes
- l'examen essentiel est le séro-diagnostic qualitatif.

Les taux d'agglutination à exiger pour affirmer la maladie sont les suivants :

- sujets non vaccinés : 1/100 pour les 4 types, tant pour O que pour H
- sujets vaccinés depuis plus de 6 mois :
 - 1/100 en O pour les 4 types de germes,
 - 1/200 en H pour Eberth et para A,
 - 1/400 en H pour para B
 - 1/100 en H pour para C
- quant aux sujets vaccinés depuis moins de 3 mois, le séro-diagnostic y est d'interprétation très difficile.

LES BRUCELLOSES (73)

-:-

Outre l'isolement du germe qui présente de nombreuses difficultés, le diagnostic biologique des Brucelloses fait appel à deux ordres de réactions, qui ne donnent qu'une certitude approchée :

- la mise en évidence des anticorps spécifiques,
- la recherche de l'état allergique.

1°- LA RECHERCHE DES ANTICORPS IN VITRO

a) LE SERO-DIAGNOSTIC DE WRIGHT est l'examen de laboratoire le plus courant, considéré actuellement comme la méthode la plus sûre de diagnostic d'une brucellose en activité. Il met en évidence les agglutinines du groupe Brucelle, communes aux 3 variétés.

Le séro-diagnostic n'est positif qu'à partir du 8e, 10e jour, parfois même plus tard ; le taux d'agglutination augmente pendant l'évolution de la maladie, et peut persister élevé pendant 18 mois à 2 ans après la guérison. Par contre, dans les formes chroniques de la maladie, il est souvent négatif ou peu significatif.

Le taux minimum exigible pour confirmer une brucellose en activité est de 1/80. Au 1/40 le diagnostic n'est pas sûr et un deuxième examen plus tardif doit montrer l'ascension du titre.

Le séro-diagnostic de Wright est une des réactions où le phénomène de zone est le plus

à craindre, d'où la nécessité d'étudier systématiquement des dilutions allant du 1/20 au 1/2560 ; la lecture se fait après 24 heures, dont les deux premières à 37°.

Le phénomène de zone peut se manifester de 2 façons :

- soit négativité des premières dilutions et la limite inférieure de la positivité varie avec la phase de la maladie.
- soit des tubes à agglutination négative situés au milieu de la gamme des dilutions.

Ce phénomène est dû à la présence d'anticorps bloquants, incomplets. Plusieurs artifices s'efforcent de supprimer leur intervention : addition d'un sérum antiglobuline de Coombs, Blocking-test. Cependant, ces anticorps bloquants auraient un certain intérêt diagnostique : ils apparaîtraient avant les agglutinines vraies et subsisteraient plus longtemps qu'elles.

Un autre écueil à éviter dans le séro-diagnostic est la présence, dans les sérums des brucelliques, de coagglutinines pour le choléra (ce qui est important dans les régions d'endémie) et pour *Pasteurella tularensis* ; elles ne peuvent être éliminées que par saturation.

Notons enfin que, dans les neurobrucelloses, on pourra rechercher les agglutinines dans le liquide céphalo-rachidien, où le taux valable est de l'ordre de 1/8.

b) UNE REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT a été proposée, elle est actuellement considérée comme ne présentant pas d'intérêt pratique. (comité d'experts de l'O.M.S.)

c) L'INDICE ACTERIOTROPIQUE a été proposé par HUDDLESON (1933) et Van der HOEDEN (1941) ; il met en évidence des anticorps particuliers :

les bactériotropines (autrement dit des opsonines).

Il consiste à mettre au contact d'une suspension globulaire le sérum du malade et une émulsion de culture de *Brucella abortus*, en présence de complément. Après contact et coloration, on compte, sur 10 polynucléaires, le nombre de ceux qui ont phagocyté 5 germes. L'indice est négatif au-dessous de 4, positif de 6 à 10.

Cette réaction, d'une réalisation délicate, serait très sensible et spécifique.

d) LE SPOT-TEST est facile à faire et donne une réponse rapide ; il a été proposé par CASTAÑEDA en 1953.

Sur une lame, on met au contact une goutte de sang entier du malade, et une goutte d'une suspension de Brucelles formolées et colorées au bleu de Méthylène. Si la réaction est positive, les hématies se réunissent au centre tandis qu'un anneau bleu périphérique indique l'agglutination.

e) C'est encore CASTAÑEDA qui a proposé le test de FIXATION EN SURFACE. Il utilise un procédé voisin de la chromatographie.

Sur une bande de papier on dépose trois gouttes d'un antigène spécial, et sur chacune on rajoute respectivement une goutte de sérum du malade, une goutte de témoin positif et de témoin négatif. En plongeant l'extrémité du papier dans du sérum physiologique, le liquide monte par capillarité et entraîne plus ou moins antigène et anticorps : il persiste une tache nette seulement à l'emplacement des gouttes où l'union antigène-anticorps a été réalisée.

De toutes ces réactions, c'est le séro-

diagnostic qui est, en pratique, la seule employée, bien que toutes les autres paraissent donner des résultats comparables.

2°- L'INTRA-DERMO-REACTION A LA MELITINE témoigne d'un état d'allergie entretenu par les germes enfermés dans les ganglions ou dans les foyers viscéraux.

Elle consiste en l'injection dans le derme de 1/10 de ml de mélitine, filtrat d'une culture de *Brucella melitensis*. Là encore, ce test ne permet pas de différencier les différentes variétés de Brucelles (ce qui d'ailleurs ne présente pas grand intérêt).

Il est indispensable de comparer la réaction à celle d'un "témoin" injecté à l'autre bras, de façon à éliminer une hypersensibilité aux protéines du bouillon.

La lecture se fait de la 20e à la 40e heure après l'injection. On ne tiendra pas compte d'une réaction précoce mais fugace, disparaissant en moins de 24 heures. Les réactions spécifiques sont maxima en 24 heures, s'effaçant en 3 ou 4 jours.

L'intra-dermo de Burnet se positive, en général à partir du 12e au 15e jour de la maladie, parfois beaucoup plus tard. Cette sensibilisation manque rarement, elle va persister des années. Ainsi, une réaction positive, si elle atteste un contact antérieur avec le germe, ne permet nullement de préciser la date du contact ; elle est fréquemment positive dans les régions d'endémie, chez les sujets sans antécédents connus de mélitococcie.

L'injection de mélitine ne paraît pas modifier sensiblement le taux des agglutinines

dans le sérum sanguin du sujet ; il est cependant prudent d'effectuer la prise de sang pour le séro-diagnostic avant l'intra-dermo-réaction.

LES LEPTOSPIROSES (60)

-:-

Le diagnostic de la spirochetose Ictéro-hémorragique et des leptospiroses voisines, repose essentiellement sur l'apparition dans le sang d'anticorps que l'on recherche par une réaction d'agglutination-lyse des spirochètes :

LE SERO-DIAGNOSTIC DE MARTIN et PETTIT

C'est la technique la plus largement employée, bien que dans certains laboratoires étrangers, on utilise plutôt une réaction de fixation du complément.

Si le principe de cette réaction est simple, l'exécution et l'interprétation en sont difficiles et délicates, nécessitant des laboratoires spécialisés ; en effet, il faut travailler sur des germes vivants, en utilisant de nombreuses souches différentes (et les leptospires sont difficiles à cultiver) ; de plus, des réactions de coagglutination sont fréquentes entre des leptospires d'espèces voisines.

Le séro-diagnostic de Martin et Pettit se positive à partir du 8e-10e jour. Les anticorps sont d'abord présents à un titre assez faible, puis le taux augmente au cours des jours suivants, pouvant atteindre assez rapidement le 1/100.000 pour *Leptospira* Ictéro-hémorragique et *Leptospira canicola*. Par la suite, le taux diminue lentement et va subsister après de longues années à un chiffre voi-

sin de 1/1.000.

Dans le cas de *Leptospira grippo-typhosa*, le taux le plus élevé ne dépasse guère 1/50.000 et est atteint vers la 3^e semaine. *Leptospira pomona* (maladie des jeunes porchers) ainsi que les autres leptospiroses sont également caractérisées par une ascension tardive des anticorps.

Le traitement par les antibiotiques affaiblit l'immunisation, abaisse le taux d'agglutination et retarde l'apparition des anticorps, et ce d'autant plus que l'antibiothérapie aura été plus précoce. Le séro-diagnostic peut en être très gêné.

Devant une réaction douteuse (taux d'agglutination faible, n'atteignant pas le 1/1.000), il peut s'agir soit d'une coagglutination, soit d'une atteinte ancienne, soit d'un prélèvement trop précoce ; il est donc nécessaire d'effectuer un deuxième examen 8 jours plus tard : si le résultat est identique, la réaction doit être considérée comme négative.

Avec le liquide céphalo-rachidien le taux d'agglutination est inférieur à celui du sang, dépassant rarement le 1/100 ou le 1/1000.

En pratique les séro-diagnostic doivent être faits vis-à-vis de plusieurs espèces de leptospires. Tantôt le laboratoire sera orienté par les renseignements cliniques fournis par le médecin demandant l'examen : profession du malade, source de contamination possible, animaux ...; en l'absence de renseignements, les examens d'orientation sont faits, à l'Institut Pasteur de Paris, sur les 3 séro-types les plus fréquemment rencontrés en France: *Leptospira ictero-hemorrhagiae*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippo-typhosa*. Mais tous les

séro-types peuvent se rencontrer même les *Leptospira australis*, comme on l'a montré récemment (71).

La présence de coagglutinines entre des types voisins complique singulièrement le problème, d'autant que la différence entre les taux est faible. Il est alors indispensable de répéter les examens à intervalles réguliers, parfois même plusieurs mois après le début de la maladie, pour déterminer la souche vis-à-vis de laquelle le taux d'agglutination-lyse sera le plus élevé.

Dans ces cas litigieux, les essais de saturation d'agglutinines, pour éliminer les coagglutinations ont donné des résultats décevants.

En total si le séro-diagnostic de Martin et Pettit est actuellement le meilleur élément du diagnostic des leptospiroses, encore faut-il pour en tirer le maximum de renseignements orienter les recherches de laboratoire par des renseignements cliniques précis et répéter les examens dans le temps.

Nous ne ferons que citer, pour être complet, l'ancienne réaction de séro-protection des Cobayes qui avait été proposée autrefois ; elle nécessitait un grand nombre d'animaux et de longs délais. La possibilité de cultiver les leptospires in vitro, donc de faire facilement des réactions d'agglutination-lyse, l'a complètement détrônée.

LES PASTEURELLOSES

--

1°- PASTEURELLA MULTOCIDA OU SEPTICA, a un rôle pathogène très réduit chez l'homme. Néanmoins, lorsque ce germe semble devoir être mis en cause, on peut s'aider pour le diagnostic d'une intra-dermo-réaction, par injection de filtrat de culture. La réaction locale apparaît 18 heures après l'inoculation, s'accompagnant de signes généraux ; elle s'atténue après 30 heures et disparaît rapidement (REILLY).

2°- PASTEURELLA PESTIS

Bien que le sérum des sujets vaccinés contienne des anticorps agglutinants, précipitants et déviant le complément, la valeur du sero-diagnostic est contestée dans la peste.

Il est négatif, en effet, dans la peste pulmonaire ; dans la peste bubonique, les agglutinines apparaissent tardivement, vers le 12e jour, et le taux d'agglutination du sérum est faible : 1/10-1/20. Cependant, dans certains cas de peste chronique où le bubon suppure longtemps le taux d'agglutination peut dépasser 1/100.

Une réaction d'héماغglutination passive d'hématies tannées a également été décrite, mais ces réactions sont en fait peu utilisées dans le diagnostic.

3°- PASTEURELLA TURALENSIS

Par contre, c'est la recherche des anticorps qui est l'élément essentiel de diagnostic de tularémie.

a) Le séro-diagnostic :

Il est positif dès le 8^e, 12^e jour de la maladie, à un taux faible : 1/10 à 1/20 ; rapidement, le taux d'agglutination augmente, pouvant atteindre des chiffres élevés : 1/10.000-1/20.000, d'où l'intérêt des deux prélèvements.

Des coagglutinines entre *Pasteurella tularensis* d'une part, *Brucella abortus* et *melitensis*, d'autre part sont possibles ; leur taux ne dépasse guère 1/100.

Les agglutinines persistent longtemps à un taux appréciable (plusieurs années) même après traitement par les antibiotiques.

b) Intra-dermo-réaction à la tularine

La lecture se fait après 48 heures pour éliminer les fausses réactions qui sont transitoires. La réaction positive est phlycténulaire, avec formation d'une croûte.

L'apparition de la sensibilisation cutanée est précoce, vers le 7^e jour de la maladie, précédant souvent l'apparition des agglutinines.

4°- PASTEURELLA PSEUDO-TUBERCULOSIS (75)

Le diagnostic sérologique de *Pasteurella pseudo-tuberculosis* connaît actuellement un regain d'intérêt, de nombreux travaux récents ayant attiré l'attention sur le rôle de ce germe en pathologie humaine, notamment dans le domaine des adénites mésentériques aiguës.

a) Réaction de séro-agglutination en tube

Il est nécessaire d'examiner les sérums vis-à-vis des 5 types sérologiques connus, bien que le type I soit le plus souvent rencontré (80 p.cent). Il faut même utiliser plusieurs souches du même type, car certaines peuvent ne pas être agglutinées par un sérum donné, comme l'a montré KNAPP. D'ailleurs les taux obtenus sont plus élevés avec la propre souche du malade lorsqu'elle a pu être isolée, qu'avec les souches hétérologues.

La réaction est assez spécifique, néanmoins des réactions sérologiques croisées sont possibles, avec certains facteurs antigéniques des Salmonelles et des Arizona ; des corrélations sont également possibles entre les divers types de Pasteurella pseudo-tuberculosis.

Le taux minimum à exiger pour affirmer le diagnostic varie suivant les auteurs ; pour Henri MOLLARET, seul a de la valeur un taux $\geq$ au 1/200. Mais plus encore que le taux initial, c'est l'évolution au cours des prélèvements successifs qui compte pour le diagnostic : l'agglutination décroît, soit d'emblée, soit après être passée par un maximum, et disparaît dans un délai variable de 1 à 4 mois. Le maintien du taux initial traduit la persistance du germe dans les ganglions, ce qui souligne la valeur pronostique de la sérologie.

En conclusion : il est indispensable de pouvoir disposer d'au moins deux échantillons de sang prélevés à un intervalle de 7 à 10 jours. On ne conclura à un résultat négatif qu'après avoir testé le sérum vis-à-vis de plusieurs souches de chaque type ; un premier examen négatif n'exclut pas le diagnostic et la répétition des prises de sang peut saisir l'apparition des anticorps.

b) Une intra-dermo réaction a été proposée permettant de confirmer les données du séro-diagnostic, avec lecture au bout de 24 à 72 heures.

On ne tiendra compte que des réactions tardives, ou des réactions précoces, mais persistant 48 heures au moins, dans l'interprétation des résultats.

Cette réaction a le mérite de rester longtemps positive et de permettre un diagnostic rétrospectif chez un malade à sérologie négative, ou de faciliter une enquête épidémiologique.

Jusqu'à présent, les résultats étaient assez décevants et variables suivant le mode de préparation de l'antigène utilisé. L'antigène actuellement délivré par le service de la pseudo-tuberculose de l'Institut Pasteur de Paris semble cependant présenter une assez grande spécificité, qui serait au moins égale à celle du séro-diagnostic.

MALADIES A GERMES DU GENRE
"HEMOPHILES"

-:-

1°- HEMOPHILUS PERTUSSIS, ou bacille de
Bordet-Gengou

Nous ne citerons que pour mémoire l'existence d'une séro-agglutination et d'une réaction de déviation de complément. Le taux d'anticorps est trop faible pour que cette méthode ait de l'intérêt pour le diagnostic de la coqueluche. Elle a cependant pu être utilisée pour étudier du point de vue expérimental l'immunité conférée par le vaccin : un taux d'agglutination supérieur à 1/320 peut être considéré comme une preuve d'immunité solide.

2°- HEMOPHILUS DUCREYI ou Bacille de Ducrey

Si l'on ne retrouve pas le germe au niveau du chancre mou, on peut pratiquer une intradermo-réaction par l'injection de corps microbiens tués (par exemple l'émulsion utilisée pour la vaccinothérapie, ou Dmelcos).

La réaction se positive vers le 10^e jour de la maladie ; elle devient négative au cours du traitement vaccinothérapique, pour redevenir positive une quinzaine de jours après l'arrêt du traitement.

-:-

LA SYPHILIS

-:-

- La sérologie de la syphilis diffère de celle des autres maladies. En effet jusqu'à ces dernières années les seuls antigènes utilisés pour les réactions ne provenaient pas de l'agent pathogène lui-même. On appelle réagines, les anticorps décelés par ces méthodes.

- Plus récemment la possibilité d'utiliser comme antigènes le tréponème lui-même, a permis de détecter des anticorps tout à fait spécifiques : agglutinines, immobilisines ...

1°- LA SEROLOGIE DE "REAGINES"

Malgré son absence de spécificité, elle a été pendant de nombreuses années la seule méthode possible pour le diagnostic de la syphilis et garde encore sa valeur.

- Les Antigènes : le problème principal des réactions sérologiques de la syphilis était celui des antigènes et il n'est pas inutile d'en rappeler brièvement l'historique.

En 1906, WASSERMANN, appliquant à cette maladie la réaction de Bordet et Gengou, utilisa comme antigène un extrait de foie d'hérédo-syphilitique, riche en tréponèmes.

Mais rapidement, on s'aperçut que des extraits de foie de sujets normaux donnaient les mêmes résultats ; la partie active est représentée par la fraction phospho-lipidique

des extraits tissulaires. Ainsi cette réaction perdait toute sa spécificité bactériologique.

Par la suite Miss PANGBORN, en 1941, en essayant de mieux préciser la structure des extraits de foie ou de coeur de boeuf utilisés, a isolé un phosphatide, la cardiolipine, qui est l'élément indispensable de l'"antigène". Il est à remarquer que les acides phosphatidiques qui constituent la cardiolipine figurent dans la constitution chimique du tréponème.

La cardiolipine, pour avoir toute son activité, doit être mélangée à du cholestérol et de la lécithine ; l'emploi des antigènes à la cardiolipine a permis de mieux standardiser les réactions, car leur valeur est pratiquement constante d'un lot de fabrication à l'autre, à la différence des extraits empiriques employés auparavant.

- Les types de réaction : plus de cent réactions ont été décrites ; nous ne ferons que rappeler les principales d'entre elles, parmi les meilleures. Elles se divisent en 2 groupes :

- Réactions d'hémolyse (ou de fixation du complément)
- Réactions de floculation

a) Réactions de fixation du complément

On n'emploie plus guère les réactions au sérum frais, où le complément est apporté par le sérum du malade ; le type en est la réaction de Hecht, ou de Ronchèse.

En règle on utilise les réactions sur sérum chauffé, où tous les éléments sont introduits séparément : sérum du malade et sérum hémolytique, tous deux inactivés, hématies de

Mouton, complément (à partir de sérum de Cobaye).

Les principales parmi ces réactions d'hémolyse sont :

- la réaction de Demanche et de Debains, où la fixation se fait à chaud,
- la réaction de Kolmer, méthode officielle aux U.S.A. (fixation du complément à froid).

b) Réactions de floculation

Elles mettent simplement en présence l'antigène et le sérum, mais selon une technique rigoureusement définie pour chacune d'elles.

La plus classique en est la réaction de Kahn ; cependant son antigène, d'un type spécial, est moins constant que la cardioli-pine, aussi tend-elle à être abandonnée actuellement, au profit des micro-floculations sur lames :

- V.D.R.L. (Venereal Diseases Research Laboratory)
- Kline
- Rein-Bossack

La législation exige, pour le diagnostic de la syphilis, à la fois une réaction d'hémolyse et une réaction de floculation. Ces dernières sont certes plus sensibles, mais de ce fait moins spécifiques.

c) Un type particulier de réactions de déviation du complément a été mis au point ces dernières années : elles utilisent comme antigène un extrait de tréponème de culture (souche Reiter) : type R.P.C.F. Bien que différent du *Treponema pallidum*, le tréponème de Reiter a une grande parenté antigénique avec lui, ce qui en fait une réaction nettement plus spécifique.

Les anticorps explorés par cette réaction sont différents des réagines que détecte la cardiolipine.

2°- LA SEROLOGIE DITE "SPECIFIQUE" EXPLORE LES "IMMOBILISINES"

a) Le test d'immobilisation des Tréponèmes (T.I.T.) de Nelson, est une véritable réaction spécifique, puisque l'antigène est le tréponème pâle lui-même.

On utilise, comme source de germes, l'orchite du Lapin ; dans un milieu de survie spécial, les germes restent très mobiles pendant 36 heures au moins. En présence du sérum du malade (et de complément), ils s'immobilisent et meurent.

On exprime le résultat en p.cent d'immobilisation spécifique des tréponèmes : négatif de 0 à 20 p.cent, douteux de 20 à 50 p.cent, positif de 50 à 100 p.cent.

b) Deux autres réactions spécifiques, puisqu'utilisant le tréponème pâle comme antigène, ont encore été proposées :

- La réaction d'agglutination des tréponèmes (T.P.A.) (TANI-CAIN 1953, Mc LEOD et MAGNUSON 1953)

- La réaction d'adhérence-disparition (NELSON), qui apprécie l'adhérence à des hématies humaines, de tréponèmes sensibilisés par l'anticorps spécifique, en présence de complément.

La sensibilité de ces 2 tests et leur spécificité est voisine de celles du test d'immobilisation des tréponèmes, quoique les anticorps décelés semblent différents ; elles présentent un inconvénient : la nécessité

d'éliminer les réagines du serum avant de pratiquer la réaction.

3°- LE TEST D'IMMUNO-FLUORESCENCE (111)
commence à être appliqué au diagnostic sérologique de la syphilis.

On utilise la technique de marquage indirect, c'est-à-dire l'emploi d'une anti-gammaglobuline fluorescente révélatrice des anticorps fixés sur le tréponème. L'antigène est une suspension de tréponèmes pâles lyophilisés et redissous avant l'emploi. Dans un premier temps, on place sur le frottis de tréponèmes, fixé et sec, la dilution du serum ou du L.C.R. à examiner ; puis, après lavage, on fait agir l'antiglobuline fluorescente. La réaction est négative lorsque les tréponèmes ne sont pas fluorescents.

Cette réaction, ou F.T.A. semble appelée à une grande extension du fait de sa simplicité relative, et surtout de sa sensibilité et de sa spécificité qui l'apparentent au test de Nelson.

4°- REACTIONS QUANTITATIVES

Il est souhaitable de pouvoir apprécier et suivre le titre des anticorps au cours du traitement.

Les réactions d'hémolyse sont peu quantitatives : on se contente d'exprimer le degré d'hémolyse par le nombre de croix, ou en notant de H0 (hémolyse nulle) à H8 (hémolyse totale). Les réactions recherchant la dilution de serum qui donne "l'hémolyse 50 p.cent" sont encore peu utilisées.

Les autres réactions, par contre, peuvent

facilement être rendues quantitatives, en faisant agir le sérum à des dilutions croissantes : réactions de floculation, test de Nelson où l'on recherchera la dilution qui donne "50 p.cent d'immobilisation", test d'immunofluorescence enfin.

5°- REACTIONS FAUSSEMENT POSITIVES

Un certain nombre d'affections peuvent donner de fausses réactions avec les antigènes cardiolipidiques : le paludisme, les hépatites virales, notamment ; dans tous ces cas douteux, le test de Nelson permettra de trancher.

Les seuls cas insolubles, sérologiquement, sont les autres tréponématoses, tel le Pian, où toute la sérologie, aussi bien réagines qu'immobilisines, est positive.

6°- EVOLUTION DE LA SEROLOGIE AU COURS DE LA MALADIE ET SOUS L'INFLUENCE DU TRAITEMENT

- l'apparition des anticorps se fait dans l'ordre suivant :
 - Anticorps de Reiter, 5 jours après le chancre,
 - Réagines vers le 10-15e jour (floculation avant hémolyse)
 - Immobilisines vers le premier mois.
- Après un traitement précoce, ils disparaissent dans l'ordre :
 - réagines au bout de 1 à 3 mois
 - anticorps agissant sur le tréponème de Reiter : 6 mois environ
 - immobilisines, pas avant 1 à 2 ans.

- Si le traitement est entrepris à la phase présérologique, la sérologie des réagines reste négative, ou présente seulement un petit "crochet" vers le 15e, 20e jour.

Le test de Nelson, peut, lui aussi, présenter un crochet, mais plus tardif : entre 1 et 2 ans.

- Dans une syphilis ancienne ou mal traitée : les réagines ont souvent disparu, et seul le test de Nelson permettra le diagnostic ; c'est d'ailleurs là qu'il prend tout son intérêt.

- Quant aux anticorps décelés par le F.T.A., ou test d'immunofluorescence, ils semblent différents des immobilisines du test de Nelson : la réaction est en effet la plus précoce de toutes, semblant se positiver avant même la sérologie classique. Le taux le plus élevé est atteint au cours de la période secondaire. Par contre, dans les syphilis anciennes, le titre est nettement plus bas avec le F.T.A. que dans le Nelson.

GONOCOCCIE

-:-

La recherche des anticorps spécifiques dans les infections à gonocoque utilise une réaction de fixation du complément : la gonoréaction. L'antigène doit être formé de souches nombreuses et variées de gonocoque afin d'être polyvalent et suffisamment sensible ; on utilise soit une émulsion de germes, soit de préférence, un lysat de culture (dont le type est l'antigène de l'Institut Pasteur).

La réaction est du même type que celles employées dans la syphilis : réaction de Kolmer par exemple.

C'est une réaction rigoureusement spécifique, positive dans 70 à 80 p.cent des cas d'urétrite aiguë ou chronique à gonocoque ; c'est surtout dans les formes chroniques qu'elle peut être utile au diagnostic.

Elle est toujours négative chez les sujets indemnes d'antécédents gonococciques.

La grossesse semble exercer sur cette réaction une action inhibitrice : elle est très souvent négative chez les femmes enceintes atteintes d'affection gonococcique.

Dans 1/3 des cas, la réaction peut rester positive alors qu'il n'y a plus de gonocoque dans l'exsudat urétral.

-:-

DYSENTERIE BACILLAIRE

-:-

La recherche des anticorps spécifiques dans le diagnostic des affections à *Shigella* n'a qu'un intérêt médiocre, à côté de l'isolement du germe par la coproculture.

Deux réactions peuvent cependant être utilisées.

I°- LE SERO-DIAGNOSTIC recherche l'agglutination par le sérum du malade d'une émulsion de germes.

L'émulsion microbienne doit être préparée à partir d'une culture de 24 heures, être formolée et contenir une quantité donnée de germes par cm^3 (800 millions).

L'agglutination sera recherchée séparément pour *Shigella dysenteriae* et pour *shigella flexneri*, avec des dilutions de sérum du 1/50 au 1/600.

a) Pour *Shigella dysenteriae* (Bacille de Shiga) l'agglutination à 1/50 n'a qu'une valeur de présomption, pouvant être le fait d'un sérum normal. Le séro-diagnostic n'est positif que si le sérum agglutine au 1/100 ou au-delà.

Si le sérum coagglutine à un taux élevé avec les deux souches (*dysenteriae* et *flexneri*) il faut conclure à une infection à *dysenteriae*.

b) Pour le bacille de Flexner, des sérums normaux peuvent agglutiner jusqu'au 1/200 ; ces agglutinations non spécifiques peuvent être favorisées par la fièvre typhoïde, le typhus, certaines colites.

En fait, ce séro-diagnostic est beaucoup moins constant que celui de la fièvre typhoïde, la positivité ne dépassant pas 50 à 60 p.cent des cas ; mais lorsqu'elle existe, elle persiste 18 mois à 2 ans.

2°- Pour la dysenterie à *Shigella dysenteriae*, il existe un test cutané d'immunité, analogue à la réaction de Schick. L'injection d'une petite dose de toxine par voie intradermique donne une réaction positive (érythème, puis petite escarre qui se forme au 4^e jour et persiste 8 jours) chez 80 p.cent des sujets qui n'ont jamais eu la maladie. Elle est négative chez les convalescents de dysenterie à *shigella dysenteriae* , pendant 2 à 3 ans.

Il n'y a pas de test correspondant pour le bacille de Flexner.

AFFECTIONS A STREPTOCOQUE HEMOLYTIQUE

-:-

Seuls les streptocoques du Groupe A de Lancefield peuvent donner lieu à des recherches sérologiques. Ce sont eux qui sont considérés comme responsables de la scarlatine et du R.A.A.

Parmi les nombreuses enzymes et toxines sécrétées par ce groupe de streptocoque, un certain nombre sont antigéniques et vont entraîner la production d'anticorps spécifiques par l'organisme infecté : ce sont la streptolysine O (toxine hémolytique), la streptokinase et la streptodornase, qui sont toutes deux fibrinolytiques, et la hyaluronidase.

- Les dosages de l'antistreptokinase et de l'anti-hyaluronidase, sont possibles, mais d'une technique très délicate, et demandant à être effectués par des laboratoires spécialisés.
- Le dosage de l'antistreptodornase a également été proposé récemment.
- En fait, c'est essentiellement le titrage de l'antistreptolysine O qui est utilisé en clinique, pour contribuer à établir un diagnostic de Scarlatine ou de maladie de Bouillaud.

La réaction consiste à comparer le pouvoir antistreptolytique du sérum à titrer à celui d'un sérum étaloné.

L'antistreptolysine, en se combinant quantitativement avec de la streptolysine inhibe ses propriétés hémolytiques. On pourra, par dilutions successives d'un sérum, évaluer son taux d'antistreptolysines.

La dose minima hémolytique est la quantité de streptolysine qui lyse un volume déterminé d'hématies. L'unité antistreptolysine (U.A.S.) est la quantité d'anticorps qui inhibe 2,5 doses minima hémolytiques.

Taux normal :

Le taux des sujets normaux est égal ou inférieur à 100-150 U.A.S. par cm³.

Taux pathologique :

On considère comme valable un taux supérieur à 200 U.A.S. par cm³.

Cette élévation apparaît 15 à 20 jours après le début d'une infection à Streptocoque du groupe A. Le taux peut être très élevé: supérieur à 400 U.A.S.

Il faut savoir qu'il existe des réactions faussement positives chez des sujets atteints de néphrose lipoïdique ou d'ictère sans qu'il y ait pour autant une élévation des antistreptolysines.

INFECTIONS A LISTERIA MONOCYTOGENES

-:-

Les listérioses sont essentiellement des maladies vétérinaires, mais les publications récentes font état de cas humains de plus en plus nombreux (méningites ou méningo-encéphalites, septicémies, maladies néo-natales). A côté de la recherche directe du germe, la sérologie peut être d'un certain appoint pour le diagnostic (15-37).

- Le séro-diagnostic d'agglutination doit être fait de façon qualitative, comme les salmonelloses, avec des souches O et H. On considère comme valable un taux de 1/160 ; il est positif à partir du 14^e jour. En fait, l'interprétation en est délicate : co-agglutinines, sélection difficile des antigènes, et il ne peut être effectué que dans des laboratoires spécialisés.

Il semble surtout présenter de l'intérêt pour dépister, par exemple, une listériose latente chez une accouchée dont le nouveau-né est atteint de la maladie ; le sérum de la mère est alors testé en utilisant comme antigène la souche isolée de l'enfant.

- On peut y adjoindre une réaction de fixation de complément moins sensible, mais plus spécifique. La positivité au 1/10 assure le diagnostic.

Quelle que soit la méthode, il faut tester le sérum vis-à-vis des 4 types de listeria existant, ou tout au moins vis-à-vis des ty-

pes 1 et 4, les plus fréquents.

On a également proposé :

- une réaction de précipitation (POTEL) mais elle n'est pas utilisable en pratique,
- une réaction d'hémagglutination passive, positive plus tard que le séro-diagnostic d'agglutination, mais persistant beaucoup plus longtemps.

Elle semble posséder une grande spécificité et une grande sensibilité mais elle n'est pas encore standardisée pour l'examen de routine.

- Précisons qu'il n'y a pas de réaction croisée avec *Erysipelothrix rhusiopathiae*, le bacille du Rouget du Porc, germe dont le diagnostic bactériologique avec *listeria* peut prêter à difficultés.

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE (105)

-:-

Le bacille du Rouget du Porc peut donner lieu lui aussi à des maladies humaines, à type de septicémies.

1°- SERO-DIAGNOSTIC

- La réaction d'agglutination donne des résultats inconstants. Il semble cependant que le sérum des malades atteints d'infection légère ne possède aucune propriété agglutinante, même au 1/10. Au contraire le sérum des malades présentant une forme septicémique peut agglutiner au 1/50 et même au 1/100.

- La fixation du complément peut également montrer la présence d'anticorps dans le sérum du malade.

Les anticorps n'apparaissent pas avant le 8e jour.

2°- INTRA-DERMO-REACTION

L'injection intra-dermique de l'antigène spécifique donne une réaction en 36 à 48 heures.

Cette réaction est positive à partir du 8e jour de la maladie.

-:-

LA TUBERCULOSE

-:-

A côté des réactions cutanées à la tuberculine, dont nous ne parlerons pas, car elles dépassent largement le cadre d'une simple union antigène-anticorps, un certain nombre de réactions sérologiques ont été proposées. Elles n'ont, en pratique, qu'un intérêt très limité.

La réaction de fixation de complément, utilisant un antigène à l'oeuf (de BESREDKA) ou un antigène méthylique (NEGRE et BOQUET), de même que la réaction d'agglutination (ARLOING-COURMONT), donnent des résultats trop inconstants pour que l'on puisse en tenir compte ; elles sont d'ailleurs très rarement utilisées.

La réaction de Middlebrook-Dubos est une réaction d'hémagglutination passive. Les antigènes polyosidiques du bacille tuberculeux sont fixés par adsorption sur des globules rouges de Mouton : ces hématies sensibilisées peuvent alors être agglutinées par du sérum de tuberculeux (ou lysées en présence de complément).

Le taux limite d'agglutination significatif est de $1/8$ à $1/16$.

Quelle est la valeur de cette réaction ? Elle est diversement appréciée suivant les auteurs.

- Pour GERNEZ-RIEUX, elle serait positive dans 81 p.cent des cas de tuberculose pulmonaire ulcéro-caséuse évolutive, dans 73 p.cent de tuberculoses extra-pulmonaires ; elle ne serait positive que dans 3 p.cent des cas chez les sujets sains. (à noter qu'elle est positive dans la lèpre).

- Une étude récente d'un auteur scandinave (106) est moins optimiste : 60 p.cent de réactions positives chez les tuberculeux, 22 p.cent chez des sujets non tuberculeux. La réaction n'aurait donc pas une spécificité ni une sensibilité suffisante pour être employée dans le diagnostic de la tuberculose. Tout au plus pourrait-elle contribuer à préciser l'évolutivité par examens comparatifs chez un même malade.

Il semble pourtant exister des anticorps sériques spécifiques chez les tuberculeux, ainsi que le prouveraient des recherches entreprises suivant une technique de diffusion en gélose (dérivée de la méthode de OUDIN).

QUATRIEME PARTIE

-:-

SEROLOGIE DES MALADIES A VIRUS

-:-

Le laboratoire de virologie est devenu un auxiliaire indispensable du clinicien, comme de l'épidémiologiste ; sa contribution au diagnostic positif et différentiel d'un grand nombre de maladies rencontrées quotidiennement est de plus en plus importante, qu'il s'agisse d'encéphalites saisonnières, de syndromes dus à des entéro-virus ou à des virus respiratoires.

L'isolement du virus, à partir de produit pathologique (selles, mucosités nasales) peut être utilisé dans un certain nombre de cas, mais il se heurte bien souvent à des difficultés techniques importantes qui en limitent l'emploi.

Par contre, la détection et le titrage des anticorps spécifiques chez le sujet suspect, représentent la méthode de diagnostic la plus efficace, d'autant qu'elle est applicable à la majorité des viroses connues (30-38-63-64-70-112).

Les réactions utilisées sont du même type que pour la bactériologie classique, elles n'en diffèrent que par un certain nombre d'éléments ou de techniques spéciales inhérentes aux propriétés physico-chimiques des virus.

Ce sont ces modalités particulières des

réactions sérologiques appliquées aux virus que nous envisagerons d'abord, puis nous verrons leurs applications au diagnostic des principales affections virales susceptibles d'être rencontrées sous nos climats.

Cinq types de techniques peuvent être employés :

- agglutination des particules virales
- déviation du complément
- inhibition de l'hémagglutination
- neutralisation
- recherche d'une sensibilisation cutanée

1°- REACTION D'AGGLUTINATION DES PARTICULES VIRALES

Elle n'est possible que pour les gros virus et grâce à des procédés de surcoloration ou d'imprégnation argentique (technique de MOROSOW).

Cette méthode a été appliquée à la vaccine et surtout aux Rickettsioses pour lesquelles elle représente actuellement le principal test diagnostic.

2°- REACTION DE DEVIATION DU COMPLEMENT, introduite en 1913 par M. GASTINEL, pour la variole et la vaccine, elle a depuis subi un développement considérable. Elle utilise le même principe que les méthodes sérologiques classiques, mais un certain nombre d'obstacles va compliquer le problème :

- les anticorps sériques sont à un taux très faible, et la marge de sensibilité est étroite.
- les antigènes, surtout, sont difficiles à préparer, labiles, et parfois même ne supportent pas l'inactivation, d'où manipulations dangereuses.

On avait d'abord utilisé comme antigènes des produits pathologiques prélevés sur des animaux ou des hommes spontanément infectés (croûtes de variole), puis les broyats ou des extraits d'organes d'animaux inoculés, mais les résultats étaient inconstants.

Un important progrès fut réalisé lorsqu'on sut purifier ces extraits d'organes, afin d'éliminer leurs antigènes propres et leur pouvoir anticomplémentaire. De même la possibilité de cultiver certains virus sur oeuf embryonné permet d'avoir une source plus importante d'antigène.

Mais lorsqu'on utilise ces produits, il faut faire un témoin avec un antigène normal "de contrôle", venant du même organe, mais non inoculé.

Enfin, l'apparition des cultures cellulaires en tubes est venu simplifier ce problème de fabrication des antigènes.

Comme pour les bactéries, les virus représentent une mosaïque d'antigènes, dont chacun va donner naissance à un anticorps spécifique. Deux types d'antigènes peuvent être utilisés pour les réactions de déviation de complément :

- l'antigène "S", soluble, obtenu en centrifugeant à grande vitesse le produit pathologique ; dans le surnageant, il n'y a plus de corps vivants, mais l'antigène soluble.
- l'antigène V, "viral", lié à la particule virale.

Il peut y avoir intérêt à séparer ces deux antigènes : ainsi dans la grippe, l'antigène S est spécifique de type alors que l'autre est spécifique de souche.

Au point de vue technique, à côté des réactions macroscopiques en tubes, on sera souvent

amené à utiliser :

- soit des semi-microméthodes en tubes,
- soit surtout des microméthodes, sur des plaques de plexiglass divisées en cases nombreuses.

Elles permettent de faire les examens en grande série et ne mettent en jeu que de très petits volumes, ce qui est bien souvent nécessaire du fait de la rareté de l'antigène. Toutes utilisent la fixation à 4°, type Kolmer.

Ces méthodes délicates nécessitent pour leur réalisation des services spécialisés.

Avec les gros virus (myagawanelles), les titres obtenus sont du même ordre de grandeur qu'en bactériologie, mais pour les plus petits, les titres sont plus faibles, ne dépassant guère 1/32-1/64.

3°- L'INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION fait appel à une propriété découverte par HIRST à propos de la grippe : certains virus provoquent l'agglutination d'hématies sur lesquelles ils se sont fixés ; les sujets infectés par ces virus, élaborent des anticorps capables d'inhiber spécifiquement cette agglutination.

Cette propriété n'est d'ailleurs pas particulière aux myxo-virus ; on l'a mise en évidence pour les encéphalites Arbor, certains adéno-virus, les virus ECHO, et tout récemment la rougeole (le problème est essentiellement de trouver l'animal dont les hématies seront sensibles à un virus donné).

- Quel est le mécanisme de l'hémagglutination ?

Un certain nombre de constatations vont aider à le comprendre :

- le pouvoir infectieux du surnageant a disparu, donc le virus s'est fixé sur les hématies ;
- en portant à 37°, l'hémagglutination est réversible, et on peut retrouver tout le virus fixé. Mais ces hématies agglutinées et éluées, ne sont plus agglutinables ; donc le virus a détruit un récepteur présent sur le globule.
- par contre, le virus a conservé toutes ses propriétés et peut à nouveau hémagglutiner.

On admet que les hématies ont à leur surface des récepteurs spécifiques pour un virus donné ; les virus viennent se fixer sur ces récepteurs et les détruisent par un phénomène enzymatique ; ils peuvent d'ailleurs être détruits par d'autres enzymes protéolytiques d'origine microbienne (vibron cholérique). Cet enzyme a été dénommé par BURNET.

"R.D.E." : (Receptor Destroying Enzyme) ; la particule virale en possède de nombreuses molécules à sa périphérie, expliquant qu'une particule puisse agglutiner plusieurs hématies.

GOTTSHALK a montré que la formule chimique du récepteur se termine par un acide neuraminique ; le R.D.E. serait donc une neuraminidase.

Du point de vue technique, là encore, la réaction peut se faire soit en tubes, soit sur plaques. A une dose constante d'hémagglutinine (Antigène), préalablement titrée, on ajoute le sérum à des dilutions différentes et une suspension de globules rouges, la lecture se fait en appréciant l'aspect du culot de sédimentation des hématies, après 1 heure $\frac{1}{2}$ de contact à + 4° ou à la température de laboratoire.

4°- LES REACTIONS DE NEUTRALISATION proprement dites (autres que la réaction d'inhibition de l'hémagglutination)

Le principe en est simple : étudier la virulence d'un mélange de virus connu et de serum d'un malade suspect. Cette réaction peut d'ailleurs être rendue quantitative.

Elle se fait donc en 2 temps :

- 1 - contact in vitro du virus et de l'anticorps,
- 2 - recherche et éventuellement dosage du virus restant, soit sur animal sensible, soit de préférence, lorsque c'est possible, sur des tubes de culture cellulaire.

Techniquement, la réaction peut être pratiquée de plusieurs façons :

a) Dose fixe de virus et dose fixe de sérum ; on titre alors le virus restant et on l'exprime soit en D.L. 50 (la D.L. 50 est la dose léthale pour 50 p.cent des animaux, ou pathogène pour 50 p.cent des tubes de culture, d'où son imprécision), soit mieux en p.cent de virus restant. A un temps donné, le nombre de cellules d'une culture en croissance est fonction de la dose de virus qui a été inoculée.

b) Dose fixe de sérum et dose variable de virus, ou l'inverse, et le résultat est exprimé en unités arbitraires correspondant à la quantité de virus que le sérum peut neutraliser.

5°- LA RECHERCHE D'UNE SENSIBILISATION CUTANEE, enfin, par intra-dermo-réaction, est applicable à de rares maladies à virus, par injection de matériel antigénique tué.

- Tel est le cas pour les oreillons, où la

réaction a surtout un intérêt épidémiologique, pour tester les sujets qui ont gardé leur sensibilité à l'infection ;

- Tel est surtout le cas pour le groupe des Myagawanelles : intra-dermo-réaction de Frei.

° °

Comme en bactériologie classique, ces différentes réactions détectent des anticorps différents les uns des autres, comme le prouve le fait qu'ils n'apparaissent pas simultanément.

En général, les anticorps déviant le complément sont les plus précoces, apparaissant vers le 5e, 8e jour ; ils disparaissent vite, au bout de 2 mois en moyenne.

Les anticorps neutralisants apparaissent rarement avant le 15e, 20e jour ; leur titre augmente jusque vers le 30e-40e jour et ils vont persister longtemps.

Les réactions de sensibilité cutanée sont beaucoup plus tardives, rarement positives avant le 2e mois, mais très durables.

Ceci explique la nécessité d'une règle encore plus importante en virologie qu'en bactériologie : il est indispensable de faire deux prélèvements de sang, le premier le plus précoce possible, le second 8 à 15 jours plus tard. C'est sur l'apparition, ou l'élévation, du taux des anticorps que s'appuiera le diagnostic. Naturellement, un résumé clinique accompagnant le prélèvement, et mentionnant les principaux symptômes, leur date d'apparition et les principaux antécédents (vaccinations éventuelles) facilitera grande-

ment la tâche du laboratoire de virologie.

6°- A côté de ces réactions mettant en évidence la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum, le diagnostic de certaines viroses s'appuie sur des réactions dénuées de toute spécificité :

- réaction de Paul et Bunnell pour la mononucléose infectieuse
- recherche des agglutinines à froid, pour le diagnostic des pneumonies atypiques à virus.

Il s'agit, là aussi, de réaction d'agglutination de globules rouges, mais n'ayant absolument aucun rapport avec l'hémagglutination par une particule virale.

APPLICATION DE CES REACTIONS AUX PRINCIPALES MALADIES A VIRUS ET AUX RICKETTSIOSES

VARIOLE

VACCINE

-:-

Les réactions sérologiques n'ont pas un grand intérêt pour le diagnostic de variole ; dans les cas douteux, en effet, c'est surtout à la recherche directe des virus dans la lésion que s'attachera le laboratoire (inoculation au Singe et au Lapin).

Mais c'est à propos de ces deux virus que la réaction de fixation du complément fut appliquée pour la première fois en virologie par GASTINEL en 1913.

On utilise comme antigène des croûtes, ou des cultures sur membranes chorio-allantoïdes.

Une réaction de neutralisation peut également être employée.

Les deux réactions sont croisées pour la variole et la vaccine : on peut donc employer indifféremment l'un ou l'autre antigène.

Après vaccination (ou infection variolitique), les anticorps déviant le complément apparaissent précocement, mais ne semblant pas en rapport direct avec l'immunité (FASQUELLE, 39); les anticorps de neutralisation apparaissent plus tard.

-:-

HERPES

-:-

1°- C'est essentiellement à la REACTION DE NEUTRALISATION que l'on fait appel, sur culture tissulaire ou oeuf de Poule embryonné. L'inoculation est pratiquée après un contact de une heure entre le sérum suspect (à des dilutions croissantes) et le virus.

Pour l'herpès, en effet, s'il n'y avait pas eu contact préalable, la multiplication du virus serait possible en présence du sérum neutralisant : ceci tient à la propagation particulière du virus herpétique qui se fait directement de cellule à cellule, sans sortir dans le milieu intercellulaire.

L'étude du taux d'anticorps en fonction de l'âge montre que chez les enfants de moins de 5 ans, 90 p.cent ont un taux nul, alors qu'à partir de 20 ans, 80 p.cent de la population possède des anticorps neutralisants (TATENO et coll. 107).

C'est dire que le fait de trouver des anticorps élevés à un examen n'a aucune valeur.

Par contre, la constatation, au cours d'une stomatite, d'un taux d'anticorps nul au début, élevé 1 mois après, permet de conclure à une primo-infection par le virus.

2°- Une réaction d'hémagglutination sur hématies tannées (40) et une réaction de déviation de complément, sont également possibles ; elles donnent des résultats identiques à la neutralisation.

3°- Plus récemment, on a proposé une méthode de diagnostic rapide, basée sur l'emploi des ANTICORPS FLUORESCENTS de COONS et KAPLAN (O. DEA - 79, LEBRUN, 62, BIEGELEISEN, 7)

Cette méthode est surtout intéressante pour le diagnostic de lésions vésiculeuses atypiques.

La sérosité de grattage est étalée et fixée sur une lame. On colore par un antisérum spécifique marqué à la fluorescéine et on regarde au microscope en lumière U.V.

Si une fluorescence apparaît, elle témoigne de la fixation de l'anticorps sur le virus, affirmant la nature herpétique de la lésion.

Cette méthode ne semble pas encore avoir été appliquée au liquide céphalo-rachidien pour le diagnostic des méningites lymphocytaires.

VARICELLE

ZONA

-:-

- La réaction de neutralisation ne peut être appliquée ici car seul le virus intracellulaire est virulent (il faut inoculer des cellules infectées pour ensemencer une culture cellulaire) et il est impossible de neutraliser un virus intracellulaire. Ceci différencie ce virus de presque tous les autres.

- La réaction de déviation du complément met en évidence des anticorps apparaissant 4 à 5 jours après le début de l'exanthème, maximum à la troisième semaine, régressant lentement.

L'étude systématique de cette réaction a montré que chez le sujet atteint de zona, il existait d'emblée un taux élevé d'anticorps anti-varicelle-zona. Le zona ne serait ainsi qu'une forme de récurrence (par réinfection endogène ?)

-:-

MALADIE DES INCLUSIONS
CYTO-MEGALIQUES

-:-

- Une réaction de déviation de complément est applicable à cette virose, avec un antigène extrait d'une culture cellulaire (sur fibroblastes humains).

Une augmentation du taux d'anticorps à quelques semaines d'intervalle indiquerait une infection récente.

Mais la grande fréquence du virus latent chez les sujets apparemment sains rend difficile l'interprétation.

- Cette réaction n'est pas praticable de façon courante pour le diagnostic, qui reste basé sur la découverte des inclusions cellulaires (LAVERGNE, 61)

-:-

CHORIO-MENINGITE LYMPHOCYTAIRE
D'ARMSTRONG

-:-

Deux réactions peuvent être utilisées :

- Réaction de fixation de complément :

Les anticorps apparaissent parfois dès la première semaine de l'infection, souvent plus tard.

Les titres les plus élevés sont obtenus vers la 3e, 6e semaine.

Ils disparaissent au bout de plusieurs mois ou années.

- La réaction de neutralisation se fait sur Souris ou Cobaye.

Les anticorps neutralisants apparaissent plus tard que les précédents.

Ces techniques surtout employées à titre expérimental ne sont pas encore entrées dans la pratique (SCHEID, 98).

-:-

ADENO-VIRUS

-:-

Un certain nombre de réactions sont applicables à ce groupe de virus, mais leur valeur est inégale (BERTOYE, 6).

1°- Les unes sont plutôt utilisées pour l'étude expérimentale de la maladie :

- Réaction de neutralisation sur culture cellulaire, qui est spécifique de type,

- Inhibition de l'hémagglutination des hématies de R hésus ou de Rat, selon le type ; cette réaction est surtout précieuse pour typer le virus (16 des 18 souches connues) (ROSEN 93 et 94, PEREIRA 87, ROSS 96).

- La réaction d'hémagglutination passive a aussi une tendance à la spécificité de type (PRIER, 89).

2°- En pratique, la réaction utilisée pour le diagnostic est la déviati on du complément.

C'est une réaction spécifique de groupe (HANNOUN, MOLLARET, 54 - CULVER, 25 - SEGAGNI, 100).

L'évolution du taux d'anticorps déviant le complément est assez particulière : apparaissant précocement (6e, 8e jour), ils vont également disparaître très vite : une chute de leur titre assez brutale s'observe en un mois en moyenne.

Si bien que les critères seront les suivants, pour interpréter la réaction :

- la présence d'un titre supérieur au 1/32 est significative d'infection récente,
- la meilleure preuve est l'augmentation de 4 fois au moins du taux initial, entre deux prélèvements espacés de 10 à 15 jours.

- On peut également prendre en considération un abaissement de 4 fois au moins du titre, entre un prélèvement tardif et un autre effectué un mois plus tard.

Il est, de plus, intéressant de noter que, dans l'entourage de malades à sérologie positive pour les adéno-virus et présentant des lésions telles qu'une adénite mesentérique, ou un syndrome respiratoire, on constate un grand nombre de sujets à réactions positives.

- La vaccination contre les adéno-virus entraîne l'apparition d'anticorps vers le 4e-5e jour, pour ceux qui dévient le complément, vers le 15e jour pour les anticorps neutralisants (CULVER, 26).

ROUGEOLE

-:-

1°- L'existence d'anticorps neutralisants et déviant le complément n'a qu'un intérêt théorique dans cette affection.

- Les premiers apparaissent vers la fin de l'éruption, leur taux est maximum 7 à 25 jours plus tard.

- La réaction de déviation du complément, utilisant un antigène soluble, semble assez couramment employée aux U.S.A. (BECH. 4).

2°- Beaucoup plus intéressante, par sa simplicité, est la réaction d'inhibition de l'héماغglutination, que l'on a réussi tout récemment (1960) à appliquer à la rougeole (ROSEN, 95 - PERIES, 88). Seuls les globules rouges de cynocéphale peuvent être agglutinés par le virus morbilleux.

Des études comparatives avec la réaction de déviation du complément ont montré l'absolue spécificité de la réaction. Les anticorps inhibant l'héماغglutination persistent plus longtemps que les autres.

-:-

GRIPPE

-:-

L'étude de la récente épidémie de grippe asiatique (1958-1959) a mis en évidence l'intérêt du laboratoire dans le diagnostic de cette maladie (O.M.S., 81).

Deux réactions sont utilisées, correspondant chacune à des indications bien précises (17). La différence entre ces deux réactions tient à la structure antigénique du virus grippal :

- l'antigène S, soluble, est spécifique du type (A, B ou C). Les anticorps correspondants, détectés par la réaction de fixation du complément, apparaissent très tôt et disparaissent vite.

- l'antigène, dit "viral", total, diffère pour chaque souche ; il est associé à l'antigène hémagglutinant. Les anticorps qui lui correspondent apparaissent nettement plus tard.

1°- LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT (SOHIER, 103 et 104)

est donc la méthode de choix pour le diagnostic de la grippe : c'est elle que demandera le clinicien. Elle permet en outre de suivre, dans une collectivité, l'évolution d'une épidémie.

Elle sera effectuée avec les antigènes solubles, correspondant aux 3 types principaux du virus grippal.

Les anticorps apparaissent très précocement : vers le 2e, 4e jour ; le taux est rapidement élevé, jusqu'à 1/320, ils disparaissent vite, en 5 à 6 semaines en moyenne.

De plus, ils n'apparaissent pas chez le vacciné.

La réaction est considérée comme positive à partir de 1/20.

Les nourrissons et enfants en bas âge peuvent ne pas avoir de réaction positive avec l'antigène soluble ; le diagnostic sérologique n'est alors possible qu'avec un antigène "viral".

2°- LA REACTION DE HIRST, réaction d'inhibition de l'hémagglutination des hématies de Poulets, ne présente, en fait, d'intérêt que pour les études épidémiologiques, réservées à des centres spécialisés.

Elle est très complexe, puisqu'il faut tester le sérum vis-à-vis de toutes les souches (plus de 30 pour le virus A) ; en pratique, chaque épidémie est due à une souche nouvelle.

L'apparition des anticorps est plus tardive, vers la deuxième semaine, devenant maximum vers la 3e, 4e semaine et durant des années ; ils vont persister à un titre relativement élevé, permettant des investigations, longtemps après une épidémie, pour identifier la souche en cause.

Après la vaccination l'évolution des anticorps inhibant l'hémagglutination est la même qu'après l'infection spontanée, ce qui réduit encore l'intérêt diagnostique de cette réaction.

On n'attachera de la valeur qu'à l'augmentation du titre des anticorps à deux prélèvements successifs : titre au moins quatre fois plus élevé.

3°- Quant à la REACTION DE NEUTRALISATION, elle est peu employée. Après contact entre le sérum et le virus, on inocule un Furet, un oeuf ou une Souris. Les anticorps neutralisants sont eux aussi spécifiques de type.

Quelle que soit la réaction employée, un certain nombre de malades présentent une réaction croisée entre deux types. Le sujet présentait une "cicatrice humorale", trace d'une première infection, à virus B par exemple ; à l'occasion d'une grippe A, apparaissent, outre les anticorps A, un rappel des anticorps anciens B. Dans ces cas, un troisième prélèvement peut être utile, car le taux des anticorps de réinfestation redescendra plus vite que les anciens.

LES OREILLONS

-:-

Le diagnostic sérologique des oreillons (SOHIER, 102) présente surtout de l'intérêt dans les cas atypiques.

Les deux prélèvements de sang seront faits, l'un le plus tôt possible, l'autre vers le 12, 15^e jour.

1°- LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

(76-97-102) utilise un antigène préparé à partir de liquide allantoïde d'oeuf de Poule embryonné.

- Les anticorps apparaissent vers le 3^e jour (pour les anticorps "S") et vers le 5^e, 7^e jour, pour les anticorps "V" (la plupart des antigènes sont totaux, permettant de détecter les anticorps "V" ; tel est l'antigène délivré par l'Institut Pasteur).

- Leur taux est maximum vers le 20^e jour : supérieur ou égal au 1/128, en tous cas 3 à 4 fois plus élevé que le taux initial. Ils vont ensuite diminuer et persister plusieurs années à un taux voisin du 1/32.

- Seule l'augmentation nette permet d'affirmer le diagnostic, cependant un taux d'emblée à 1/64 est considéré par SOHIER comme significatif d'une infection récente.

- Chez les sujets immunisés en contact avec des malades, on peut noter une ascension modé-

rée du titre d'anticorps. Le taux des anticorps a été étudié en fonction de l'âge : il a été trouvé nul de 30 jours à un an (perte très rapide des anticorps maternels), positif dans 35 p.cent des cas de 1 à 4 ans, dans 66 p.cent de 5 à 10 ans (LIPPI, CORSO : 66). Ceci correspond à un grand nombre d'infections inapparentes.

2°- INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION des hématies de Poulet ayant fixe le virus ourlien (réaction de Hirst appliquée aux oreillons).

Plus encore que pour la déviation de complément, l'augmentation nette du titre est nécessaire ; l'apparition et l'augmentation plus tardive de ces anticorps neutralisants en fait une réaction de moindre intérêt que la précédente.

3°- LA REACTION DE BURNET, d'agglutination d'hématies sensibilisées est actuellement abandonnée, vu ses difficultés techniques.

4°- L'INTRA-DERMO-REACTION (MOUNET, SOHIER, 76), faite avec du liquide amniotique infecté et formolé, ne se positive qu'après un long délai : de 20 jours à 120 jours (c'est dire qu'une réaction positive au cours d'une parotidite permet d'éliminer le diagnostic formellement).

Elle a surtout de l'intérêt pour les études épidémiologiques. L'intra-dermo-réaction peut entraîner la formation d'anticorps devant le complément et neutralisants.

ENTERO-VIRUS

-:-

Ils comprennent les virus poliomyélitiques, coxsackie, ECHO. Leur diagnostic sérologique repose essentiellement sur la recherche des ANTICORPS NEUTRALISANTS ; ils doivent apparaître vis-à-vis du virus suspecté, tandis que la sérologie reste négative pour d'autres virus produisant le même syndrome (DROUHET, 33).

Mais le problème se complique du fait que l'acquisition peut se faire en dehors de la maladie clinique ; la fréquence des maladies inapparentes fait que beaucoup de sérums renferment des anticorps vis-à-vis de l'un ou l'autre de ces virus.

A - POLIOMYELITIS

La réaction se pratique sur culture cellulaire (cellule K B ou de rein de Singe), et indépendamment pour chacun des 3 types de virus polio. (34-65)

I°- LA REACTION DE NEUTRALISATION PERMET AVANT TOUT LE CONTROLE DE L'IMMUNITÉ :

- contrôle systématique du niveau et de la fréquence moyenne de l'immunisation d'une population donnée, ce qui permet de juger de l'efficacité du vaccin sur cette population.
- contrôle de l'immunité sur le plan individuel avant vaccination, ou après, pour juger de son efficacité (72) : on sait que l'immu-

nité n'est complète qu'après le rappel. Le contrôle n'a d'intérêt que pour renseigner dans certaines situations délicates ou embarrassantes.

On se contentera alors de réactions qualitatives : si la réaction est positive au taux de 1/10, le sujet est protégé (LEPINE).

2°- POUR LE DIAGNOSTIC DE LA POLIOMYELITIS,
CETTE REACTION DE NEUTRALISATION présente également un certain intérêt, à côté de l'isolement du virus, long et difficile et de la réaction de fixation de complément, où la préparation de l'antigène est trop délicate pour une utilisation de routine.

Mais alors, il faut une réaction quantitative pour préciser le titre. Pour LEPINE et coll. (65), un titre compris entre 1/10 et 1/320 est souvent observé après une immunisation spontanée ancienne ; des taux supérieurs au 1/640, voire à 1/2.560, se voient à la suite d'infection récente, mais aussi à titre de réaction de rappel après contact avec le virus.

Le diagnostic de poliomyélite ne doit théoriquement être établi que par l'élévation du titre à deux prélèvements successifs ; en fait, et c'est ce qui limite la valeur de la méthode pour le diagnostic : les anticorps apparaissent très précocement (2e, 3e jour de la maladie), atteignant très vite leur taux maximum, et restent longtemps élevés. D'ailleurs, un grand nombre d'enfants ont des anticorps pour 1 ou 2 au moins des types viraux.

Ainsi, si la présence d'anticorps à un premier prélèvement n'a aucune valeur diagnostique, par contre, un résultat négatif, devant un syndrome paralytique, permet d'éliminer formellement la maladie de Heine-Medin.

De plus, l'augmentation du titre des anticorps n'est pas forcément limitée au type de virus poliomyélitique en cause, mais peut atteindre les deux autres, compliquant encore l'interprétation.

Notons enfin, que jusqu'à 3 à 6 mois, le nourrisson possède des anticorps d'origine maternelle ; il faut donc titrer simultanément le sérum de la mère et celui de l'enfant.

Au total, et surtout pour l'adulte, dans la plupart des cas, la sérologie n'a qu'une valeur d'indication pour le diagnostic qui reste essentiellement clinique (THIEFFRY, 108).

Quant à la recherche des anticorps déviant le complément, elle est possible pour la poliomyélite, mais il n'existe pas d'antigène suffisamment purifié pour être spécifique de type, d'où des réactions croisées. Elle n'est donc pas employée en pratique.

B - VIRUS COXSACKIE

On peut étudier les anticorps déviant le complément et les anticorps neutralisants, ces derniers persistant beaucoup plus longtemps que les précédents (49, 67).

1°- La réaction de déviation du complément utilise un antigène préparé à partir de broyat de carcasse de Souriceau nouveau-né infecté (seul animal sensible).

2°- La réaction de neutralisation se fait par inoculation au Souriceau nouveau-né, sauf pour le type A-9 et tous les types B, qui peuvent être étudiés sur culture tissulaire.

En fait, toutes ces investigations sont laborieuses, car il n'y a pas d'antigène commun :

antigène et anticorps sont spécifiques de souches et chaque sérum doit être testé en présence des 24 souches isolées, ce qui n'est à la portée que de rares instituts spécialisés.

En France, les seuls types testés par l'Institut Pasteur sont : les types B (maladie de Bornholm), les types A1, A2, A4, A5, A6 et A8 par réaction de fixation de complément ; ce sont d'ailleurs les types les plus fréquemment rencontrés en clinique.

Une réponse négative peut donc être le fait, soit d'un prélèvement de sang trop précoce ou trop tardif, soit d'un type antigénique différent.

Des études systématiques (NIGRO, 78) ont montré la positivité en fonction de l'âge (qui est d'ailleurs identique pour tous les entéro-virus) :

- 90 p.cent de positif chez les nouveau-nés et jusqu'à 6 mois,
- au-delà de 6 mois : baisse du nombre d'enfants ayant des anticorps, jusqu'à 10 p.cent
- de 2 à 9 ans : remontée progressive, et à l'âge adulte, 60 à 80 p.cent des sujets sont porteurs d'anticorps, ce qui indique la fréquence des maladies inapparentes.

C - ECHO

Là encore, la sérologie n'est actuellement pas d'un grand secours, car il n'y a pas de communauté antigénique à l'intérieur du groupe :

- les anticorps neutralisants doivent donc être recherchés vis-à-vis des 28 types antigéniques actuellement connus (étude sur culture de cellules de rein de Singe) (18-52)

- des réactions plus simples sont cependant à l'étude, réaction de déviation du complément, et surtout réaction d'inhibition de l'hémagglutination, type Hirst, qui semble actuellement sur le point d'entrer dans la pratique.

MONONUCLEOSE INFECTIEUSE

-:-

Il est classique de la rattacher aux viroses, bien que l'agent pathogène n'ait pas encore été isolé.

Le diagnostic sérologique de la mononucléose infectieuse se fonde sur la réaction de Paul et Bunnell et Davidsohn, qui, bien que spécifique de la maladie, ne repose pas sur des bases immunologiques sûres, puisque le germe est inconnu.

Dans le sérum des sujets atteints de cette affection apparaissent des anticorps agglutinant à un taux élevé les hématies de Mouton ; DAVIDSOHN a montré que ces anticorps sont différents des agglutinines anti-Mouton normales que présentent certains sujets : les anticorps hétérophiles ou anticorps de Forsmann. En effet, les anticorps de Forsmann sont absorbés par un extrait de rein de Cobaye, alors que les anticorps de la mononucléose sont absorbés spécifiquement par des globules rouges de Boeuf.

La réaction consiste donc à mesurer vis-à-vis des globules rouges de Mouton :

- le pouvoir agglutinant global du sérum,
- le pouvoir agglutinant du sérum absorbé sur rein de Cobaye (donc privé d'anticorps hétérophile)
- et le sérum absorbé sur globules rouges de Boeuf.

On fera des dilutions croissantes du sérum (de 1/5 au 1/10 240).

L'agglutination se note 2, 1 ou 0, selon qu'elle est nette, légère ou nulle.

Les résultats s'expriment ainsi :

- pour un sérum normal, par exemple :

sérum seul	2 II 000 000 000
sérum + rein Cobaye	0 00 000 000 000
sérum + GR Boeuf	2 II 000 000 000

- dans la mononu-

cléose :	2 22 222 221 100
	2 22 222 211 000
	2 10 000 000 000

Chez les sujets ayant reçu des injections de sérum de Cheval thérapeutique, le titre d'anticorps hétérophiles peut être relativement élevé, mais ils sont absorbés par le rein de Cobaye.

La réaction devient positive vers le 8e, 10e jour de la maladie et peut rester 2 à 3 mois ainsi ; le taux d'anticorps atteint souvent le 1/5000 à 1/10 000. Il est cependant des cas où malgré un tableau clinique évident de mononucléose infectieuse, la réaction de Paul et Bunnell reste négative : on a montré récemment qu'il s'agissait alors, le plus souvent, de toxoplasmose acquise de l'adulte, comme le prouve la sérologie.

GROUPE ORNITHOSE-PSITTACOSE ET
MALADIE DE NICOLAS-FAVRE

-:-

1°- LA REACTION DE DEVIATION DE COMPLEMENT
est d'une technique assez facile. Elle est faite à l'aide d'un antigène de groupe psittacose-ornithose-lymphogranulomatose, préparé par l'Institut Pasteur, à partir de culture de virus sur sacs vitellins.

Elle est positive à partir du 8e jour de la maladie, une réponse positive au 1/32 sera significative, mais là encore, il y a tout intérêt à avoir un sérum tardif.

De toutes façons la réaction n'est pas spécifique à l'intérieur du groupe des Myagawanelles, et c'est l'absence d'affection du type maladie de Nicolas-Favre qui seule permet d'affirmer l'ornithose-psittacose.

Un faible taux d'anticorps peut être noté au cours de maladies dues à des virus proches : lymphoréticulose bénigne d'inoculation (griffes du Chat), trachome et surtout chlamydozoon oculo-génital, responsable de la "conjonctivite des piscines" et de cas de syndrome de Reiter.

2°- INTRA-DERMO-REACTION DE FREI

- Utilise un antigène inactivé, animal, ou à partir de culture sur sac vitellin,
- la réaction spécifique est tardive, n'apparaissant qu'à la 24e, 48e heure, maximum au 4e jour.

La sensibilisation apparaît en 3 ou 4 se-

maines chez les malades, elle persiste des années. La réponse positive ne signifie donc pas forcément que les manifestations actuelles soient bien dues à la maladie, mais en tous cas que le sujet a présenté une infection due au virus de Nicolas-Favre.

A la différence de la réaction de déviation de complément, elle est absolument spécifique, restant négative chez les sujets atteints de psittacose-ornithose, ou de maladie des griffes du Chat.

Elle peut être répétée, ne sensibilisant pas le sujet.

3°- UNE REACTION D'INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION a été étudiée (16), mais elle n'est pas spécifique du groupe ornithose-psittacose.

RICKETTSIOSES

-:-

Les anticorps élaborés au cours des Rickettsioses sont de 4 types :

- les anticorps agglutinant le proteus
- les anticorps agglutinant les rickettsies,
- les anticorps déviant le complément
- les anticorps neutralisants

Tous peuvent être utilisés pour le diagnostic de la maladie (47-99).

Nous n'envisagerons que les Rickettsioses rencontrées dans nos régions.

1°- LA REACTION DE WEIL-FELIX recherche l'agglutination de certaines souches de proteus, OX19 et OX2, souches qui peuvent être isolées chez des malades atteints de typhus exanthématique.

Elle se pratique comme un séro-diagnostic de Widal et est considérée comme positive au taux de 1/300. La réaction apparaît dans le sérum à la fin du premier septennaire, et disparaît en deux mois ; le taux est maximum vers le 20^e jour.

- L'hémo-diagnostic de Brumpt est une variante de ce séro-diagnostic, il consiste à rechercher sur lame l'agglutination par le sang total du malade d'une émulsion de proteus colorés et formolés. C'est une réaction simple, mais non quantitative ; elle permet la recherche en série d'anticorps, afin de

déterminer dans une population un index de contamination probable par le typhus.

Mais la spécificité des anticorps responsables de l'agglutination des proteus est insuffisante et la réaction de Weil-Felix ne paraît pas un critère pathognomonique. De plus, dans la fièvre "Q", aucun proteus n'est agglutiné.

2°- LES ANTICORPS AGGLUTINANT LES RICKETTSIES

sont beaucoup plus intéressants à rechercher du fait de leur spécificité. On utilise les méthodes de micro-agglutination sur lame, mises au point par P. GIROUD (48). La réaction consiste à mettre sur lame en contact une goutte de suspension formolée de Rickettsies de culture et une goutte de sérum à des dilutions croissantes. Après un temps de contact de 18 heures, on sèche et on colore au Giemsa ou par la méthode de STAMP ; en cas d'agglutination on voit nettement les gros amas de Rickettsies.

Actuellement, GIROUD fait systématiquement, pour chaque sujet suspect, une agglutination avec :

- 4 antigènes rickettsiens :
 - épidémique (R. prowazecki)
 - murin (R. mooseri)
 - boutonneux (R. conori)
 - burnetien (R. burneti = fièvre "Q")
- 2 antigènes néo-rickettsiens, X14 et V14, isolés de l'homme
- 1 antigène psittacose vraie.

Les taux exigibles sont de :

- 1/320 pour Rickettsia prowazecki,
- 1/160 pour Rickettsia mooseri et conori, et 1/20 pour burneti, néo-rickettsies et psittacose (GIROUD, 46-47).

L'évolution de ces antigènes est parallèle à ceux de la réaction de Weil-Félix : apparition vers le 8e jour de la maladie, élévation progressive pour arriver au taux le plus élevé vers le 15-20e jour après le début de l'hyperthermie, puis diminution progressive, la positivité persiste seulement quelques mois.

Dans les infections bénignes, le taux monte plus lentement et l'apparition est d'autant plus tardive que le traitement aura été plus précoce.

Actuellement, se pose un problème nouveau : c'est celui du séro-diagnostic chez les sujets vaccinés par un vaccin tué, de type Durand-Giroud. Ce problème est loin d'être négligeable, du fait de la vaccination d'importantes fractions de la population (militaires du contingent servant en Afrique du Nord).

On constate (FOLIGUET, 42) une augmentation importante des anticorps d'agglutination anti-murin et anti-épidémique, maxima deux semaines après la 3e injection ; le taux, variable d'un sujet à l'autre, est aux alentours de $1/80 - 1/320$, mais peut aller jusqu'à $1/1.280$. Il baisse dans une notable proportion au bout d'un an.

Il faut donc tenir compte de la date d'un vaccin éventuel dans l'interprétation d'une sérologie positive, et pour conclure à des agglutinines d'origine infectieuse, il faut, pour FOLIGUET, exiger un taux $\geq 1/640$, pour l'épidémique, $\geq 1/320$ pour le murin.

Mais il faut surtout tenir compte de deux critères indispensables :

- la courbe croissante, puis décroissante des anticorps aux prélèvements successifs,
- la diminution notable du taux d'agglutination sous l'influence de traitement antibiotique.

Enfin, des difficultés dans l'interprétation de cette sérologie peuvent être le fait :

- de coagglutinations ou d'agglutinations concomitantes à d'autres rickettsies, notamment chez le vacciné, avec par exemple réascension du taux d'anticorps murin et épidémique à l'occasion d'une fièvre boutonneuse,
- de réactivations passagères à l'occasion de causes intercurrentes, notamment d'affections du système réticulo-endothelial, avec réascension d'anticorps résiduels vaccinaux ou infectieux.

3°- LA RECHERCHE DES ANTICORPS DEVIANT LE COMPLEMENT est plus difficile. Sa spécificité est discutée ; l'apparition de ces anticorps est parallèle à celle des agglutinants, ils disparaissent en même temps.

La réaction de déviation du complément peut être réalisée soit avec un antigène total, représenté par une suspension de Rickettsies, soit avec un antigène soluble.

C'est une réaction sans intérêt pratique.

4°- LES ANTICORPS NEUTRALISANTS apparaissent peu après les autres, mais surtout ils vont persister des années, voire toute la vie. C'est donc un test intéressant pour un diagnostic rétrospectif.

Leur recherche se fait par une réaction de séro-protection cutanée chez le Lapin :

- on réalise un mélange sérum du malade à des doses variables et suspension de rickettsies virulentes, que l'on injecte dans le derme d'un Lapin.

En l'absence de neutralisation, apparaît dans les jours suivants une necrose ou une

grosse réaction, au point d'inoculation.

Cette réaction est spécifique des diverses rickettsies.

5°- A côté de ces réactions sérologiques, l'étude d'une REACTION ALLERGIQUE CUTANÉE est intéressante ; elle se fait par injection intra-dermique de suspension de rickettsies tuées.

La positivation de cette réaction est très tardive, mais elle va persister des années.

Elle présente cependant certains inconvénients :

- manque de spécificité, du fait des rapports entre les différents antigènes rickettsiens : la réaction est commune à toutes les rickettsioses ;
- danger parfois de réactions graves chez les sujets hypersensibilisés, d'où la nécessité d'injecter des doses faibles.

On ne la fera que si les autres réactions sont négatives.

EN CONCLUSION : quelle est la valeur respective de ces différents tests ?

- La réaction de Weil-Félix (et sa variante de Brumpt) présente surtout un intérêt d'orientation ; en outre elle permet l'étude rapide de grandes fractions de population.
- La réaction la plus importante, parce que spécifique, est l'agglutination de Rickettsies, c'est elle que l'on demandera au cours et au décours d'une affection aiguë.
- La réaction de neutralisation et l'intra-dermo-réaction présentent au contraire de l'intérêt pour le diagnostic rétrospectif, notamment pour rattacher à un typhus ancien

une vascularite, ou pour une étude épidémiologique.

De plus il est intéressant de noter que c'est le séro-diagnostic qui a permis d'isoler les néo-rickettsies, devant des sérums de malades qui réagissaient à la fois avec l'antigène de la psittacose et avec ceux de *Rickettsia conori*.

Ainsi a-t-on pu rapprocher :

- des syndromes cliniques intermédiaires entre ceux de la fièvre boutonneuse et de la psittacose,
- des syndromes méningo-encéphalitiques, hépatiques
- des syndromes infectieux avec atteinte de l'endocarde et du myocarde.

Il semble s'agir d'organismes intermédiaires aux Rickettsies et aux Myagawanelles.

C'est pourquoi tous les sérums suspects sont testés vis-à-vis des rickettsies, des néorickettsies et de la psittacose.

CINQUIEME PARTIE

-:-

SEROLOGIE ET PARASITOLOGIE

-:-

L'application à la parasitologie des méthodes immunologiques utilisées en bactériologie s'est longtemps soldée par des échecs qui tenaient essentiellement à la difficulté de préparation des antigènes spécifiques. Pourtant, les mêmes phénomènes s'observent dans ces deux disciplines et les réactions sérologiques sont utilisables en parasitologie pour détecter chez le sujet infesté les anticorps spécifiques qui permettent d'affirmer le diagnostic ("colloque sur l'immunité en parasitologie" - 56).

Nous envisagerons successivement les aspects particuliers des antigènes, puis des anticorps parasitaires.

o°o

LES ANTIGENES UTILISABLES POUR LA SEROLOGIE

Un certain nombre de problèmes rendent leur préparation délicate. C'est d'abord la grande diversité des parasites, allant des plus petits unicellulaires à des métazoaires de grande taille, ainsi que la complexité structurale de tels parasites. Si une simple bacté-

rie est déjà une "mosaïque" d'antigènes, qu'en sera-t-il pour un nématode, par exemple ? D'ailleurs, parmi les antigènes, certains sont communs à des espèces voisines, ou même différentes ; au milieu de toutes ces substances, l'antigène spécifique est presque impossible à isoler.

Une autre difficulté, majeure, est due aux conditions de culture du parasite :

- ou bien il est cultivable (cas de certains protozoaires), mais on se trouve dans des conditions anormales, très différentes de celles qui régissent le pouvoir pathogène ; les antigènes extraits dans de telles conditions semblent différents de ceux que l'on extrait du même être à l'état parasitaire.

- ou bien le parasite n'est pas cultivable, et il devient difficile de le débarrasser des substances de l'hôte qui l'imprègnent, donc de préparer un antigène convenablement purifié.

Enfin l'intervention souvent prédominante des métabolites des parasites vient encore compliquer le problème.

Un progrès a été réalisé dans la préparation des antigènes parasitaires par la lyophilisation, permettant de préparer de grandes quantités à la fois, du fait de la bonne conservation, donc d'avoir plusieurs lots de valeur égale que l'on aura pu tester.

Néanmoins ce problème des antigènes parasitaires est, encore actuellement, mal résolu.

LES ANTICORPS APPARAISSANT CHEZ L'HOTE INFESTE sont variés.

On peut schématiquement les classer ainsi.

1°- LES ANTICORPS PARASITICIDES peuvent être détectés de diverses manières :

- par un test de séro-protection de l'animal sensible,
- par un test voisin du test de Nelson : immobilisation en présence de complément (test d'immobilisation spécifique de cercaires de schistosomes)
- par une modification morphologique du parasite en présence de l'anticorps : perte d'une affinité tinctoriale du toxoplasme, dans le dye-test
- au maximum, ces altérations vont jusqu'à la lyse du parasite.

Ces anticorps sont, généralement, les plus spécifiques.

2°- LES ANTICORPS DEVIANT LE COMPLEMENT, sont connus depuis longtemps (applications dès 1906 au diagnostic de la maladie hydatique).

Ils existent autant pour les protozoaires que pour les helminthes et même les mycoses.

La spécificité de ces anticorps est peu étroite : ils donnent souvent des réactions de groupe. Mais ils sont très sensibles, disparaissant rapidement après la guérison, à la différence des anticorps immobilisants ou des tests cutanés.

3°- LES ANTICORPS PRECIPITANTS sont mis en évidence par toutes les réactions habituelles en bactériologie (Ring-test, diffusion en gélose), sans oublier la méthode des anti-

corps fluorescents : un immuno-serum rendu fluorescent donnera avec l'antigène spécifique un précipité fluorescent qu'il sera impossible de retirer par lavage.

Cette méthode a été proposée, entre autres, par GOLDMAN (50) pour la différenciation entre amibe histolytica et amibe colique, par Mc ENTERTON (69) pour l'étude du trichomonas vaginalis.

4°- LA RECHERCHE DES AGGLUTININES est assez difficile en parasitologie, du fait de l'existence de phénomènes physiques ou mécaniques qui faussent les résultats et les applications en sont limitées. Citons cependant l'agglutination des cercaires de Schistosoma mansoni.

On a appliqué dans ce domaine les méthodes utilisant les adjuvants d'agglutination : fixation de l'antigène sur des hématies et hémagglutination passive, surtout emploi de particules de collodion ou de bentonite (COUDERT, 24). Ce type de réaction, d'abord appliqué aux mycoses (coccidio ido-mycose, histoplasmoses) est étendu à d'autres parasites.

5°- Des réactions identiques aux réactions d'OPSONISATION peuvent être utilisées en parasitologie (fixation des leucocytes sur les microfilaires). On en rapprochera la fixation des trypanosomes sur les hématies et les leucocytes, sous la dépendance d'anticorps spécifiques.

6°- LES TESTS DE SENSIBILISATION CUTANÉE sont en fait les réactions les plus utilisées en parasitologie. Deux types de réponses peuvent être observées après injection

intra-dermique, d'un antigène parasitaire :

- une réaction précoce, urticarienne, apparaissant en quelques minutes, durant 2 à 3 heures, c'est le type de réaction rencontrée dans les helminthiases,
- une réaction plus tardive, apparaissant vers la 6e heure, pour s'effacer en 48 heures. C'est de cette réaction tardive que l'on tiendra compte dans le diagnostic des mycoses profondes et des protozooses.

Ces deux types de réaction, tests cutanés, et recherche d'anticorps circulants, ne présentent pas le même intérêt :

les réactions cutanées sont plus volontiers demandées car d'une exécution facile, mais elles ne sont pas toujours parfaitement spécifiques ; de plus, elles vont persister indéfiniment une fois installées, ne préjugant pas de l'ancienneté de la maladie, et ne permettant qu'un diagnostic rétrospectif.

A l'opposé, les réactions sérologiques, si elles sont plus délicates, sont beaucoup plus spécifiques ; de plus, l'évolution du taux des anticorps et leur disparition permettent de suivre l'effet du traitement.

° ° °

QUELLE EST LA PLACE DES TESTS IMMUNOLOGIQUES DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE PARASITOSE ?

1 - L'organisme infesté ne réagit pas de la même façon aux divers parasites. Selon le mode d'élaboration des anticorps circulants, on peut distinguer 2 catégories de parasites :

a - les uns sont strictement localisés dans le tube digestif ; la production d'anticorps est alors extrêmement faible, et les tests immunologiques inutilisables

b - les parasites strictement tissulaires ou sanguins, de même que les parasites à cycle évolutif, provoquent par leurs localisations ou par leurs migrations, une puissante réponse immunitaire, relativement spécifique ; la détection des anticorps trouve donc ici sa pleine indication.

Il semble toutefois, que l'on ait pu mettre en évidence des anticorps plus particulièrement spécialisés contre l'une ou l'autre forme : oeuf, larve, adulte.

D'autre part, tous les parasites tissulaires n'ont pas le même pouvoir antigénique : ainsi l'hydatide est entourée d'une membrane anhiste qui empêche la diffusion des substances antigéniques, qui sont au contraire libérées par les kystes fissurés.

Enfin, il existe une relation très nette entre l'activité métabolique du parasite et son pouvoir antigénique, celui-ci étant d'autant plus marqué que l'activité métabolique est plus grande. C'est pourquoi on a pensé que le support des motifs antigéniques pourrait être représenté, en partie au moins, par les produits de sécrétion ou d'excrétion des parasites.

2 - Les tests immunologiques n'ont donc pas le même intérêt dans toutes les parasitoses.

Il existe de nombreuses maladies où le parasite peut être mis en évidence : les réactions sérologiques ne sont pas alors d'un grand intérêt, c'est le cas de la plupart des parasitoses digestives.

Ailleurs, bien que la découverte du parasite soit indispensable au diagnostic, la sérologie est d'une grande importance : parce qu'elle rend le diagnostic très probable, elle oblige à tout mettre en oeuvre pour mettre en évidence l'agent pathogène (c'est le cas des leishmanioses) .

Il est enfin des cas où le parasite ne peut pas être découvert. Les réactions immunologiques apporteront soit une quasi-certitude (dye-test et toxoplasme), soit une forte présomption (kyste hydatique).

Parfois même, on n'attendra pas la découverte des oeufs de parasite pour mettre en oeuvre un traitement le plus précoce possible, sur la foi des signes sérologiques (complétant bien sûr les suspicions cliniques) : c'est ce que beaucoup d'auteurs recommandent, par exemple pour la distomatose hépatique.

° °

Telles sont, dans leurs grandes lignes, les applications de la sérologie aux maladies parasitaires. Nous n'entrerons pas dans le détail des réactions sérologiques de chaque parasitose, mais nous nous contenterons d'indiquer, pour les plus importantes d'entre elles, les principales réactions que le clinicien peut demander au biologiste pour aider un diagnostic hésitant.

HELMINTHIASES

-:-

Deux réactions, en pratique, sont utilisées pour les diagnostics d'helminthiases (23) :

- fixation du complément
- intra-dermo-réaction.

1°- LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

fait appel à un extrait concentré de parasite, comme antigène, c'est une méthode simple, à la portée de tout laboratoire. Si la plus utilisée est la réaction de Weinberg, pour le diagnostic du kyste hydatique, d'autres helminthiases peuvent également être recherchées par cette technique.

2°- L'INTRA-DERMO-REACTION

Elle comporte l'injection de l'antigène et d'un témoin. La réaction positive est du type précoc (en quelques minutes) ; c'est une réaction de groupe, ne précisant pas l'espèce parasitaire en cause.

Elle traduit une infestation actuelle ou récemment guérie. Il existe des antigènes ascardien, bilharzien, distomien, filarien, trichinien, hydatique (réaction de Casoni).

Des réactions croisées sont possibles (distomatose et bilharziose), mais elles ne sont pas gênantes, du fait du contexte clinique.

3°- D'autres réactions sont surtout utilisées à titre expérimental. Les plus sensibles et les plus spécifiques sont les réactions d'agglutination des particules sensibilisées, particules de collodion ou de bentonite (COUDERT).

La réaction de fixation de complément sera toujours pratiquée avant l'intra-dermo-réaction, car celle-ci peut sensibiliser le sujet et faire apparaître des anticorps.

PROTOZOOSSES

- :-

Seuls les protozoaires viscéraux entraînent l'apparition d'anticorps.

TRYPANOSOMIASES

- La réaction de fixation du complément a pu donner des renseignements, mais la difficulté de préparation de l'antigène en limite l'emploi.
- L'hémagglutination passive d'hématies tannées, actuellement à l'étude, semble très spécifique (BONISSET, 10).
- En fait, la place principale reste à la recherche de parasites dans le sang.

LEISHMANIOSES (RANQUE et coll. 91)

- La réaction de fixation du complément utilise soit des antigènes leishmaniens, soit des antigènes éloignés, tels que des extraits de bacille tuberculeux (92).

Positive dans la majorité des cas de kala-azar, les résultats en sont inconstants dans les leishmanioses cutanées ou cutanéomuqueuses.

Des réactions croisées sont possibles avec la tuberculose, la lèpre.

- La réaction d'agglutination serait plus spécifique que la précédente vis-à-vis des différents types (*L. donovani*, *tropica*, *brasiliensis* ...)

- Les tests cutanés semblent plus intéressants, surtout dans les leishmanioses cutanées, où ils donnent des réactions de groupe.

C'est par contre une réaction de peu de valeur pour les leishmanioses viscérales.

Cet ensemble de tests présente un certain intérêt dans les leishmanioses où la découverte du parasite n'est pas toujours aisée.

Leur positivité, jointe à la suspicion clinique, ne permet certes pas d'affirmer le diagnostic, mais doit faire tout mettre en oeuvre pour trouver la leishmanie.

PALUDISME

Deux réactions sérologiques ont été proposées :

- Réaction de Henry
- Réaction de Chorine.

Elles ne sont pas très spécifiques, pouvant être positives dans le Kala-Azar, le typhus, les cirrhoses, la tuberculose.

I° - Réaction de Henry ou mélanofloculation

C'est une réaction de floculation basée sur la conception de Henry que les pigments mélaniques du sang des paludéens se comporteraient comme des "endo-antigènes" donnant naissance à des anticorps.

Elle utilise comme antigène des pigments analogues :

mélanine de l'oeil de boeuf (mais sa structure chimique est différente, d'où le manque de spécificité).

La réaction de Henry à la mélanine se lit au photomètre de Vernes :

- négative de 0 à 12
- douteuse de 12 à 20
- positive de 20 à 50 unités Vernes.

Une variante récente utilise l'hémozoïne, pigment fabriqué par l'hématozoaire aux dépens de l'hémoglobine ; peut-être est-elle plus spécifique.

2° - La réaction de Chorine est une flocculation du serum en eau distillée.

Positive de 20 à 100 unités Vernes, elle serait en faveur du kala-azar, au-delà de 100 unités.

Ces deux réactions ne sauraient donc en aucun cas remplacer la découverte de l'hématozoaire pour affirmer le diagnostic du paludisme.

TOXOPLASMOSE (31)

Deux examens sont utilisés pour le séro-diagnostic de la toxoplasmose :

- le dye-test de Sabin et Feldman
- la réaction de fixation du complément

1°- LE DYE-TEST DE SABIN met en évidence des anticorps parasitocides. Il consiste en une modification des affinités tinctoriales du parasite sous l'influence des anticorps et en présence de complément ; en fait, le colorant met simplement en évidence une lyse parasitaire. L'examen en contraste de phase permet une observation facile des étapes de cette lyse : turgescence suivie de rupture de la membrane cellulaire et de perte partielle du cytoplasme.

On utilise comme antigène un liquide d'ascite de Souris infestée. Chaque série de réaction est encadrée de témoins positifs et de témoin négatif et on apprécie le pourcentage de parasites lysés.

2°- LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

utilise également comme antigène un extrait d'ascite de Souris. Les résultats sont comparables à ceux du dye-test. Ces deux réactions seront toujours pratiquées conjointement (DESMONTS), la réaction de fixation du complément ne pouvant suffire à asseoir le diagnostic : les risques de fi-

xation non spécifique sont d'autant plus grands que la technique adoptée est plus sensible. Les anticorps détectés par ces deux méthodes semblent identiques.

EVOLUTION DU TAUX D'ANTICORPS :

a) Toxoplasmose acquise ganglionnaire : la date d'apparition des anticorps est difficile à apprécier, car le contage est en règle inconnu ; il semble qu'ils apparaissent dès la première semaine de la maladie clinique. Leur taux augmente pendant 1 à 2 mois, le titre maximum variant suivant la technique.

La chute des anticorps est variable, mais assez lente, et ils peuvent persister pendant 2 à 3 ans à un titre appréciable. Des études systématiques montrent la fréquence de réactions positives croissant en fonction de l'âge, et chez l'adulte 70 p.cent environ de la population a une infection toxoplasmique. Quels sont donc les critères permettant de dire "toxoplasmose récente"? La constatation d'une ascension d'anticorps contemporaine d'une maladie clinique serait la meilleure preuve, mais elle est inconstante. Pour TESMONTS, une sérologie fortement positive suffit à affirmer l'infection toxoplasmique ; mais cette affection est si souvent asymptomatique qu'elle ne mérite d'être retenue comme cause d'un état pathologique, que si rien d'autre ne l'explique.

b) Toxoplasmose congénitale

L'enfant naît avec un taux élevé d'anticorps (celui de sa mère), comme d'ailleurs le nouveau-né normal ; mais, alors que chez l'enfant normal les anticorps disparaissent vers le 2e, 3e mois, ici ou bien ils persis-

tent élevés, ou bien ils s'atténuent pour remonter ensuite, et cette rechute sérologique s'accompagne souvent d'une rechute clinique. Ainsi le diagnostic sérologique de toxoplasmose congénitale est plus ou moins difficile selon l'âge et tout particulièrement dans une forme clinique spéciale, la toxoplasmose oculaire.

MYCOSES

-:-

1 - Les phénomènes d'immunité dans les mycoses (32-56), bien qu'assez voisins de ceux des autres infections, présentent cependant certaines particularités :

- il s'agit en règle d'infections chroniques à évolution lente
- les champignons pathogènes sont plus allergéniques, mais moins antigéniques que les bactéries, d'où un titre d'anticorps en règle très bas.
- comme pour les parasites, la structure relativement complexe du champignon explique la multiplicité des antigènes;
- enfin, la purification des antigènes est difficile, les réactions immunitaires sont de faible intensité et les réactions croisées sont fréquentes.

2 - La recherche d'anticorps s'effectue par les réactions classiques de la sérologie.

- réactions d'agglutination de spores ou de formes levures (*sporotrichum*), agglutination des particules de collodion sensibilisées par l'histoplasmine
- réactions de précipitation en tube ou en milieu gélifié
- réaction de fixation du complément, peu utilisée du fait des nombreuses réactions de groupe existant pour les mycoses profondes

- réactions d'immunofluorescence directe ou indirecte

- réactions de sensibilité cutanée surtout, qui ont une grande valeur pour un nombre important de mycoses ; mais elles ne permettent pas de préciser s'il s'agit d'une infection actuelle ou passée.

La valeur de ces tests cutanés dans le diagnostic des mycoses est donc très limitée dans les régions d'endémie ; par contre, dans une région où l'affection est rare, une intra-dermo-réaction positive prend une grande valeur. Mais une certaine anergie peut s'observer au cours d'infections graves disséminées, d'où possibilité de réactions faussement négatives.

Ces tests intradermiques se lisent au bout de 48 h ; ils semblent assez spécifiques.

3 - Valeur de ces réactions pour le diagnostic des principales mycoses

- Candidoses

L'interprétation des réactions sérologiques est difficile, car les *Candida* sont des saprophytes habituels de l'intestin, et un grand nombre de sujets normaux agglutinent les levures.

L'intra-dermo-réaction à la Candidine n'a pas de valeur pour le diagnostic d'infection à *Candida*, mais présente par contre un grand intérêt dans les affections allergiques consécutives à une sensibilisation à *Candida* (une réaction focale accompagne alors la réaction locale)

- Aspergillose

Là encore, l'intra-dermo-réaction est surtout utile pour détecter la sensibilité allergique

(asthme bronchique) ; la réaction est positive également dans l'aspergillome bronchectasiant.

- Histoplasmosc, Coccidioïdomycose et Blastomycose

Dans ces trois mycoses profondes, la réaction immunologique est en général forte, surtout dans l'histoplasmosc.

L'allergie cutanée apparaît la première, mais n'a d'intérêt diagnostique qu'en région non endémique ; les agglutinines apparaissent ensuite, puis les anticorps déviant le complément qui vont persister des années.

Il est utile d'étudier deux sérums, précoce et tardif, pour surprendre la montée du titre.

- La Cryptococcose, par contre est une mycose profonde qui ne donne que peu d'anticorps ; le polyoside capsulaire, par son abondance, semble responsable d'une véritable "paralyse immunologique".

- Dans la Sporotrichose, le diagnostic sérologique présente un intérêt assez modéré.

- Les Dermatophyties, enfin, s'accompagnent d'une hypersensibilité acquise comparable au phénomène de Koch de la tuberculose, allant de pair avec la positivité de l'intra-dermo-réaction à la trichophytine ; mais il s'agit là d'un véritable état allergique.

En fin de compte, le diagnostic d'une mycose repose en premier lieu sur l'isolement du champignon par culture, ensuite sur les tests cutanés, et enfin sur les réactions sérologiques. Les progrès récents concernant la préparation des antigènes doivent permettre d'augmenter la sensibilité et la spécificité de ces réactions, afin de les rendre plus utiles au diagnostic.

CONCLUSIONS

-:-

Nous avons essayé, en ces pages, de regrouper les données actuelles concernant les applications de la réaction antigène-anticorps au diagnostic sérologique des maladies infectieuses.

Depuis les découvertes des premiers immunologistes, et les premières tentatives de recherche d'anticorps dans les humeurs des malades, nos connaissances en la matière se sont considérablement étendues.

Le mécanisme intime de l'union in vitro d'un antigène et d'un anticorps est maintenant assez bien connu ; et si, pour certains points, l'explication est encore du domaine de l'hypothèse, les découvertes les plus récentes de la physicochimie viennent progressivement confirmer ces suppositions.

La sérologie des maladies bactériennes est bien codifiée et bien connue ; quelques perfectionnements de la sérologie classique, ainsi qu'un certain nombre de techniques nouvelles sont cependant venues la compléter au cours de ces dernières années.

Mais sans conteste, c'est en virologie que les acquisitions récentes sont les plus nombreuses ; si naguère encore le clinicien hésitait à demander autre chose qu'une réaction

de Hirst ou une recherche d'agglutinines froides, l'éventail des réactions et le nombre des viroses explorées s'élargit de jour en jour, et, comme le disait récemment M. LEPINE, le laboratoire de virologie est devenu un auxiliaire indispensable du médecin praticien.

Ceci est dû, certes, au perfectionnement et à l'adaptation des méthodes classiques de sérologie. Mais ceci est dû aussi à l'extension à d'autres virus de certaines réactions simples et rapides autrefois limitées à une ou deux variétés de germes. Tel est le cas de la réaction d'inhibition d'hémagglutination des hématies, découverte en 1941 par HIRST à propos du virus grippal, appliquée ensuite aux oreillons, étendue tout récemment aux adéno-virus et à la rougeole, et en passe d'être appliquée aux entéro-virus.

La parasitologie, elle-même, n'a pas échappé à cette évolution, et commence à bénéficier largement du diagnostic sérologique, alors que, pendant longtemps, il fut de bon ton de n'accorder aucune valeur à cette méthode pour l'identification du parasite.

Les progrès accomplis dans l'extraction et la purification des antigènes employés pour ces réactions ont certainement joué un rôle de premier plan dans le développement actuel de la sérologie. Ceci est vrai en virologie, où les nouvelles techniques de culture permettent d'obtenir en quantité appréciable un nombre de plus en plus grand de virus ; ceci est vrai surtout pour la parasitologie, où la préparation d'antigènes convenables était l'obstacle majeur des années passées.

En effet, le succès d'une réaction sérologique, donc son intérêt pour le clinicien, dépend étroitement de la qualité de l'antigène utilisé : purification suffisante pour

qu'il soit spécifique, mais sans qu'il ait perdu ses propriétés antigéniques, et constance d'un lot de fabrication à l'autre.

Enfin, l'apparition récente de techniques nouvelles vient encore enrichir le choix des réactions dont nous disposons. Ainsi, l'emploi des anticorps fluorescents, mis au point par COONS, dont nous avons vu la simplicité et les multiples applications tant en bactériologie, qu'en virologie ou en parasitologie, ouvre d'immenses possibilités susceptibles de transformer les méthodes sérologiques dans les années à venir.

-:-

Vu :
Le Président :
Signé : FASQUELLE

Vu :
Le Doyen :
Signé : L. BINET

Vu et Permis d'Imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :
Signé : Jean SARRAILH.

BIBLIOGRAPHIE

-:-

- 1 - ANTOINE B. et DUCROT H.
Une technique de recherche des anticorps
sériques vis-à-vis d'antigenes non fi-
gurés : agglutination en tubes d'hématies
tannées et sensibilisées ("Hémaggluti-
nation passive").
Rev. franç. d'Et. Clin. et Biob. 1957,
2, 1, p.81
- 2 - BARCISZEWSKI, JANECKI, et JEZIORANSKA
Clinical and serological evaluation of
trichinosis
Journal of Hyg. microbiol. and immunol.
Praha 1959, 3, 3, p.317
- 3 - BASTIN R.
Diagnostic biologique des infections
typho-paratyphiques.
Rev. du Praticien, Paris, 1953, 3, 19
p. 1349
- 4 - BECH V.
Studies on the development of C.F.
antibodies in measles patients. Obser-
vations during a measles epidemic in
Greenland.
Journ. of Immunology, Baltimore 1959,
83, 3, p.267
- 5 - BENEDICT S. and O'BRIEN E.
A passive hemagglutination reaction
for psittacosis.
The Journ. of Immunology Baltimore
1958, 80, 2, p.94

- 6 - BERTOYE A.
Les adénos-virus.
Rev. du Praticien, Paris, 1958, 8, 30,
p. 3459
- 7 - BIEGELEISEN J.Z., SCOTT L.V. and LEWIS V.
Rapid diagnosis of herpes Simplex virus
infections with fluorescent antibody.
Science Washington 1959, 129, 3349, p.64
- 8 - BORDET J.
Traité de l'immunité dans les maladies
infectieuses.
Masson & C^o, Paris 1939
- 9 - BOREL L.J. et DURÉL P.
L'immunofluorescence. Ses possibilités
en parasitologie.
Sem. des Hôp. Paris, Pathol. et Biologie
1960, 8, 1-2, p. 65
- 10 - BOUISSET L. et Coll.
Technique d'hémagglutination passive
dans la recherche de l'immunisation
trypanosomienne.
Sem. des Hôp. Paris, Pathol. et Biol.
1960, 8, 1-2, p.91
- 11 - BOULANGER P., JAYLE M.F. et ROCHE J.
Exposés annuels de biochimie médicale.
Masson et Cie Edit. Paris 1960
- 12 - BOYD
Journal of exper. Med. 1942, 75, p.407
- 13 - BOYDEN
The absorption of proteins on erythro-
cytes treated with tannic acid and sub-
sequent hemagglutination by antiprotein
sera.
Journ. of Exper. Med. 1951, 93, p.107
- 14 - BRES P. et Coll.
Contribution du laboratoire au diagnos-
tic de la variole.
Bull. Med. de l'A.O.F. Dakar 1958, 3,4
p.459

- 15 - BRET, GODLEWSKI, VALENTIN, SOLLE
Infections à Listeria
Gazette méd. de France, 1960, 1, 9,
p. 1717
- 16 - BUCCA M.A.
Comparison of complement fixation and
hemagglutination - inhibition tests
on psittacosis L G V serums. Public
Health reports.
Washington 1958, 73, 5, p.461
- 17 - CATEIGNE G.
Le diagnostic de la grippe au laboratoire.
Rev. d'Hygiène et de méd. soc. Paris
1959 - 7, 3, p. 277 (importante
bibliographie)
- 18 - COONEY M.K., BOYD L.E. and BAUER H.
ECHO - 9 virus antibody titrations in
Hela cells system.
Proceedings of the soc. for exper.
Biol. and Med. 1959 101, 1, p.180
- 19 - COONS A.H.
Fluorescent antibody methods.
General Cytochemical Methods -
New-York, 1958, 1, p. 399
- 20 - COONS A.H.
The diagnostic application of fluores-
cent antibodies -
Schweizerische Zeitsch. Für allgem.
Path. und Bakt. Basel 1959, 22, 5,
p.700 (importante bibliographie)
- 21 - COONS A.H.
Antibodies and antigens labelled with
fluorescein.
Schweizerische Zeitsch. für Allgem.
Path. und Bakt Basel 1959, 22, 5 p.693
- 22 - COONS A.H. and KAPLAN M.H.
Journal of experimental - Medicine
1950, 91, 1.

- 23 - COUDERT J.
Mise en évidence des anticorps spécifiques dans quelques helminthiases tissulaires.
Sem. des Hôp. Paris, Pathol. et Biol.
1960, 8, 1-2, p. 139
- 24 - COUDERT J. et COLY M.
Essai d'application de la réaction d'agglutination des particules de collodion à quelques parasitoses.
Ann. Parasit. hum. et compar. 1956,
31, 5-6, p.489
- 25 - CULVER J.O., LENETTE E.H. and GREEN L.
Serologic reactions in adeno-virus disease ; delayed complement fixing antibody response.
Journal of Labor. and Clinic Med. 1959,
53, 2, p.241
- 26 - CULVER J.O. and Al.
Adeno-virus vaccine ; a study of the complement fixing and neutralizing antibody response.
American Journ. of Hygien 1959, 69,
2, p.112
- 27 - DEACON and Al
Identification of Neisseria gonorrhoeae by means of fluorescent antibodies.
Proc. Soc. Exp. Biol. Méd. 1959, 101,
p.322
- 28 - DEAN and WEBB
J. Path. Bact. 1926, 29, p.473
- 29 - DEMARCHI J., BERGOT J. et NICOLI J.
Quelques considérations sur la place de l'immunologie dans la trypanosomiase humaine africaine.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol.
1960, 8, 1-2, p.85

- 30 - DESBORDES et MAURIN
Apport du laboratoire d'analyses médicales au diagnostic des viroses.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol. 1959
7-8, p.869
- 31 - DESMONTS G.
Diagnostic sérologique de la toxoplasmose.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol. 1960,
8, 1-2, p.109
- 32 - DROUHET E. et SEGRETAINE G.
Les phénomènes d'immunité dans les mycoses.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol. 1960
8, 3-4, p.289
- 33 - DROUHET V.
Sur le diagnostic virologique et sérologique des infections à entéro-virus.
Sem. Hôp. Paris Pathol. et Biol. 1960,
8, 1-2, p.17
- 34 - DROUHET V.
Diagnostic virologique et sérologique de la Poliomyélite, méthodes et techniques.
Sem. Hôp. Paris 1959, 35, p. 1333
- 35 - DUMAS J. et les chefs de service de l'Institut Pasteur
Bactériologie Médicale - Collection Flammarion à révision annuelle. Paris
- 36 - DUREL P., DAGUET G., BOREL L.J. et FRIBOURG-BLANC A.
Valeur de la sérologie dans le diagnostic et le traitement de la syphilis.
Revue du Praticien, Paris 1953, 3, 28,
p. 2017
- 37 - DURIEUX R.
Contribution à l'étude des Listérioses du nouveau-né.
Thèse Paris 59

- 38 - FASQUELLE R.
Virologie Médicale, Paris 1959
- 39 - FASQUELLE R.
Virus vaccinal, réactions sérologiques
et immunité.
Bull. Acad. Nation. de Méd.
Paris 1960, 144, 1-2, p.20
- 40 - FELTON Fr. and SCOTT L.V.
Studies on Hemagglutination with
Herpes simplex virus.
The Journal of Immunology. Baltimore
1958, 80, 3, p. 186
- 41 - FIFE and MUSCHEL
Fluorescent antibody technic for sero-
diagnostic of Trypanosoma cruzi infec-
tion.
Proceed. of the Soc. for Exper. Biol.
and Med. Utica 1959, 101, 3, p. 540
- 42 - FOLIGUET J.M.
De l'interprétation à donner au séro-
diagnostic des Rickettsioses par la
technique de micro-agglutination de
P. Giroud, en particulier chez les
vaccinés récents et anciens.
Bull. Soc. de Pathol. Exot. Paris 1960,
53, 1, p.72
- 43 - GARABEDIAN, MATOSSIAN et SUIDAN
A correlative study of immunological
tests for the diagnosis of hydatid
disease.
Amer. Journ. of tropical Med. and Hyg.
Baltimore 1959, 8, 1, p.67
- 44 - GASTINEL P., FASQUELLE R. et BARBIER
Eléments d'Immunologie générale.
Masson édit. Paris 1955
- 45 - GAUTIER J.
Les infections humaines à Listeria mono-
cytogenes.
Rev. Praticien, Paris 1958, 8, 30, p.3481

46 - GIROUD P.

Le diagnostic biologique des Rickettsioses.

Le Bull. Med. Paris 1954, 19, p.403

47 - GIROUD P. et PFISTER R.

Réactions biologiques, tests spécifiques permettant le diagnostic des atteintes vasculaires dues à des rickettsioses ou à des éléments à leur limite (néo-rickettsies).

Presse Méd. Paris 1957, 65, 43, p.1019

48 - GIROUD P. et GIROUD M.L.

Agglutination des Rickettsies, test de séroprotection et réactions d'hypersensibilité.

Bull. Soc. Path. Exot. Paris 1944, 37, p.84

49 - GOETZ D.

Die Bedeutung der Komplementbindungsreaktion für die Diagnostik von Coxsackie. Infektionen -

Zeitschrift für Kinderheilkunde - 1959, 82, 2, p.217

50 - GOLDMAN M.

Cytochemical differentiation of entamoeba histolytica and E. Coli by mean of fluorescent antibody.

Amer. J. of Hyg. 1953, 58, p.319

51 - GRABAR et WILLIAMS

Bioch. Biophys. Acta 1953, 10, p. 193

52 - HALONEN P., ROSEN L. and HUEBNER R.

Typing of ECHO - viruses by a complement fixation technique.

Proceed. of the Soc. for exper. Biol. and Med. 1958, 98, 1, p. 105

- 53 - HALPEREN, DONALDSON, SULKIN
Identification of streptococci in
bacterial mixtures and clinical speci-
mens with fluorescent antibody.
J. Bact. 1958, 76, p.223
- 54 - HANNOUN C., MOLIARET H. et THIAUCOURT P.
Le rôle des adénovirus dans l'étiologie
de l'adénite mésentérique.
Presse Méd. Paris 1961, 69, 15, p.671
- 55 - HEIDELBERGER
Bact. Rev. 1939, 3, p.49
- 56 - "Immunité en parasitologie" (Colloque
sur les phénomènes D') par la Société
Franç. de Biol. Med. Marseille 1959.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol. 1960,
8, n°1-2 et 3-4
- 57 - JACKSON
Fluorescent antibody studies of trichi-
nella spiralis infection.
Journal of Infect. Diseases. Chicago
1959, 105, 2, p.97
- 58 - KAGAN, ALLAIN, NORMAN
An evaluation of the hemagglutination
and flocculation tests in the diagnosis
of echinococcus disease.
Amer. Journ. of tropical Med. and Hyg.
Baltimore 1959, 8, 1, p.51
- 59 - KALTER S., HATCHER M.H. and AJELLO G.W.
The laboratory diagnosis of poliomye-
litis with fluorescent antibody.
Bact. Proc. (Soc. Amer. Bacterologists)
1959, p.89 (Abstracts).
- 60 - KOLOCHINE - ERBER B.
Méthodes de laboratoire dans le dia-
gnostic des leptospiroses.
Revue du Praticien, Paris, 1958, 8, 29,
p. 3381

- 61 - LAVERGNE E. de, et coll.
Recherches biologiques permettant in vivo le diagnostic de la maladie des inclusions cyto-mégali-ques.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol.
1960, 13-14, 15-16, p. 1447
- 62 - LEBRUN
Journal of virology 1956, 2, p. 496
- 63 - LEPINE P. et SOHIER R.
Diagnostic des maladies à virus.
Masson Edit. Paris 1954
- 64 - LEPINE P.
Contribution du laboratoire au diagnostic des maladies à virus.
Maroc Médical - Casablanca 1951, 38, 404, p.24
- 65 - LEPINE P. et Coll.
Réaction de séro-neutralisation des virus poliomyélitiques dans la pratique médicale courante.
Sem. Hôp. Paris, 1960, 36, 22, p.1406
- 66 - LIPPI, CORSO, FRUGONI
Contributo siero immunologico alla conoscenza delle principale virosi.
Ricerca nei soggetti sani degli anti-corpi devianti il complemento verso il virus della parotite epidemica.
Arch. Ital. di Scienze Med. Tropicali e di Parassitologia, Roma 1960, 41, 6, p.283
(Résumé en français)
- 67 - LIPPI, SEBASTIANI, BALDUCCI
Contributo siero immunologico alla conoscenza delle principale virosi.
I virus Coxsackie di gruppo B. Arch. Ital. di Scienze Med. Trop. e di Paras. Roma 1960, 41, 3

68 - LIU C.

Rapid diagnosis of human influenza infection from nasal smears by means of fluorescein -labelled antibody.

Proc. Soc. Exper. Biol. and med. 1956, 92, p.883

69 - MAC ENTEGART M.G. et coll.

Fluorescent antisera in the detection of serological varieties of *Trichomonas vaginalis*.

Brit. Journ. Ven. Dis. 1958, 34, p.1

70 - Mac LEAN

The laboratory diagnosis of virus infections with particular reference to the role of public health of laboratories in Canada.

Canadian Journ. of public Health - Toronto 1960, 51, 3, p. 94

71 - MAILLOUX M., KOLOCHINE - ERBER B. et FREMONT J.

Leptospiroses a *L. australis* en France. Presse Médicale, Paris 1960, 69, 16, p. 723

72 - MARTIN R. et Coll.

Deux ans et demi de vaccination anti-poliomyélitique (Vaccin Lépine) à l'hôpital de l'Institut Pasteur. Résultats immunologiques. Importance de l'injection de rappel.

Ann. Inst. Past. Paris 1951, 97, p.757

73 - MELNOTTE P.

Diagnostic biologique des Brucelloses. Rev. du Praticien, Paris 1955, 5, 3, p. 247

74 - MERKLEN F.P.

Immunité et infections.

Revue du Praticien. Paris 1958, 8, 12 (N° entier consacré à l'immunité, antigènes et anticorps).

75 - MOLLARET H.

L'adénite mésentérique aiguë à Pasteurella pseudo-tuberculosis. A propos de 30 observations. Etude clinique sérologique et bactériologique. Presse Méd. Paris 1960, 68, 36, p.1375 ; Etude épidémiologique; id. 68, 39, p. 1447 ; Etude anatomopathologique : id. 68, 40, p. 1485 - (importante biblio.)

76 - MOUNET P., SOHIER R. et FREYCON F.

Réaction cutanée d'allergie et réaction de fixation du complément au cours de deux épidémies d'oreillons. Recherche sur leur intérêt pratique. Rev. d'Hyg. et de Méd. sociale - Paris 1958, 6, 4, p. 335

77 - MORELLINI e FERRI

La diagnosi immunologica dell' idatidosi umane con l'antigene contenuto nell' estratto acquoso della membrana cistina. Minerva Medica. Torino 1960, 51, 54, p. 2433

78 - NIGRO N., ANSALDI M. et CROSATO M.

Frequenza et titolo degli anticorpi F.C. anti coxsackie B nell' infanzia. Minerva Pediatrica 1960, 12, 38, p.1079

79 - O'DEA, DINEEN

Journ. gen. microbiol. 1957, 17, p.19

80 - O.M.S.

Etude de la bilharziose en laboratoire. OMS chronique. Genève 1959, 13, 1, p.41

81 - O.M.S.

La grippe - Pandémie 1957 - 58. Epidémiologie, Immunologie, vaccination, diagnostic, virologie, infection animale. OMS Bulletin - Genève 1959, 20, 2-3 (spécial) (importante bibliographie)

- 82 - OUCHTERLONY
Lancet 1949, 256, p.346
- 83 - OUDIN
Ann. Inst. Pasteur, Paris 1948, 75,
p. 30
- 84 - PAULING L.
Chimie générale (traduit par Pâris)
Dunod édit. Paris 1958
- 85 - PAULING L.
J. Amer. Chem. Soc. 1940, 62, p.2643
- 86 - PAUTRIZEL R. et BAILENGER J.
Immunité et allergie dans les helmin-
thiases.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol.
1960, 8, 1-2, p. 131
- 87 - PEREIRA
Typing of A.P.C. viruses by complement-
fixation.
Journ. Path. and Bact. 1956, 72, p.105
- 88 - PERIES J.P., CHANY Ch. (présente par
TREFOUEL)
Activité hémagglutinante et hémolytique
du virus morbilleux.
Compte-rendus séances Acad. des Sciences
Paris, 1960, 251, p.820
- 89 - PRIER J.
Studies on serologic identification
of adeno-virus. Comparison of the H.A.,
conglutinating complement adsorption,
and C.F. tests.
Journ. of Labor and Clin. Med. St Louis
1958, 51, 3, p. 495
- 90 - RANQUE J., DEPIEDS R. et NICOLI R.M.
Les phénomènes d'immunité en parasito-
logie.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol. 1960,
8, 1,-2, p. 47

- 91 - RANQUE J., DEPIEDS R. et NICOLI R.M.
Les phénomènes d'immunité dans les
leishmanioses.
Sem. Hôp. Paris, Pathol. et Biol. 1960,
8, 1-2, p. 99
- 92 - ROCCUZO e PANE
La deviazione del complemento con anti-
gene metilico tubercolare nel quadro
dell prove diagnostiche per la leishma-
niosi viscerale infantile.
Revista pediatri. Siciliana - Catania
1959, 14, 2, p. 73
- 93 - ROSEN L.
Hemagglutination and Adeno-virus.
Virology 1958 - 5, 3, p. 575
- 94 - ROSEN L.
A hemagglutination - inhibition techni-
que for typing adeno-virus.
Amer. Journ. of Hyg. 1960, 71, 1, p.120
- 95 - ROSEN L.
Hemagglutination and hemagglutination-
inhibition with measles virus.
Virology, 1961, 13, 1, p. 139
- 96 - ROSS E. and GINSBERG H.
Hemagglutination with adeno-virus.
Nature of viral antigen.
Proceed. of the Soc. for Exp. biol.
and Med. 1958, 98, p.501
- 97 - SAINT-GROTH S., GRAHAM and JACK
The serology of mumps infections.
A new source of antigen and a simplified
complement-fixing test.
Journ. of Labor. and Clinical Med.
Saint-Louis 1958, 51, 6, p. 883
- 98 - SCHEID W., ACKERMANN R., JOCHHEIM K.A.
Die Bedeutung der komplement bindenden
und der neutralisierenden Antikörpern für
die Diagnose der Infektionen mit dem vi-

rus der lymphozytären choriomeningitis -

Deutsch. Medizinisch. Wochenschrift.
Stuttgart 1959, 84, 29, p.1293
(Résumé en anglais)

99 - SCHNEIDER J.

Les Rickettsioses dans la pratique médicale en France ; leur diagnostic en période évolutive et leur diagnostic rétrospectif.
Entretiens de Bichat, Méd. Paris 1958, p. 435

100 - SEGAGNI E., ANSALDI N., NIGRO N.

Frequenza e titolo degli anticorpi F.C. per i virus A.P.C. nell'infanzia
Minerva Pediatria 1959, 11, 43, p. 1140

101 - SHELDON

Leptospiral antigen demonstrated by the fluorescent antibody technic in human muscle lesions of Leptospirosis I.H.
Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 1953, 84, p. 165

102 - SOHIER R.

Diagnostic biologique des oreillons.
Rev. du Praticien, Paris 1953, 3, 9, p. 585

103 - SOHIER R., FREYDIER, CHALLUT et THAL

Etude de la réaction de fixation du complément au cours de la grippe asiatique - Influence de l'âge des sujets sur l'élaboration des anticorps "solubles" et "viraux" du groupe A (PR 8) et A (Asie 57) -
Arch. Belges de Med. Soc. Hyg. Med. du Travail et Med. Lég. Bruxelles 1959, 17, 2, p. 112

- 104 - SOHIER R. et Coll.
Réaction de fixation du complément
chez les sujets atteints de grippe
asiatique, et rôle de l'âge dans
l'élaboration des anticorps.
Ann. Inst. Pasteur, Paris 1959, 96,
5, p. 513
- 105 - SOLOT G.
Contribution à l'étude des formes
septicémiques dues à *Erysipelothrix*
Rhusiopathiae -
Thèse Paris 1955
- 106 - SPANBERG J.
A clinical study of the haemaggluti-
nation reaction in tuberculosis.
Acta tuberculosa Scandinavica 1959,
Supplém. 16 (analysé dans Presse Med.
Paris, 1959, 67, 59, p. 2233)
- 107 - TATENO I. et Coll.
Age distribution of the neutralizing
antibody to Herpes simplex virus.
Japanese Journ. of Exp. Med. Tokyo
1958, 28, 5, p.375
- 108 - THIEFFRY S. et Coll.
Apport des examens de laboratoire
pour le diagnostic de la poliomyé-
lie.
Sem. Hôp. Paris 1959, 35, p. 1343
- 109 - THOMASON B.M., CHERRY W.B. and EWING W.H
Rapid identification of serotypes
of *Escherichia coli* with polyvalent
antibody globulines labelled with
fluorescein.
Bact. Proc. (Soc. Amer. Bacteriolo-
gists). 1959, p.90 (abstracts).
- 110 - TOPLEY and WILSON'S
Principles of Bacteriology and Immu-
nology.
Arnold édit. London 1955

- 111 - VAISMAN A. et HAMELIN A.
Application au diagnostic sérologique de la syphilis de la méthode d'immunofluorescence.
La Presse Méd. 1961, 26, p. 1157
(Bibliographie)
- 112 - VIEUCHANGE J.
Réaction de fixation d'hématies en culture de cellules infectées de variole.
Bull. Soc. Pathol. Exot. Paris 1959, 52, 4, p. 432
- 113 - "Virologie" - Revue Lyonnaise de Med.
1959, 8, 1, (n° special)
- 114 - WEI et KUO.
Intradermal reaction in ankylostomiasis -
Chinese Medical Journal - Peking 1958, 76, 6, p. 556
- 115 - WHITAKER J. et Coll.
Rapid identification of entero-pathogenic Escherichia coli 127 - B 8 by the fluorescent antibody technique
A.M.A.J. Diseases children 1958, 95, p.1.

TABLE DES MATIERES

-:-

	Pages
- <u>Introduction</u>	19
- <u>PREMIERE PARTIE : Mécanisme de</u> <u>l'union antigène-anticorps</u>	21
- <u>DEUXIEME PARTIE : Manifestations</u> <u>in vitro de l'union antigène-</u> <u>anticorps</u>	29
. réactions de précipitation	30
. réactions d'agglutination	32
. réactions de bactériolyse	34
. opsonisation	35
. réaction de déviation du complément	37
. réactions utilisant la fixa- tion de l'antigène sur un support	38
. réactions de neutralisation	39
. immunofluorescence	40
. réactions cutanées	42
- <u>TROISIEME PARTIE : Diagnostic des</u> <u>principales maladies bactériennes</u>	
. Infections typho-paratyphiques	45
. Brucelloses	49
. Leptospiroses	54
. Pasteurelloses	57
. Maladies à "Hémophiles"	61

	Pages
• Syphilis	62
• Gonococcie	69
• Dysenterie bacillaire	70
• Affections à Streptocoque hémolytique	72
• Listérioses	74
• Rouget du Porc	76
• Tuberculose	77
 - QUATRIEME PARTIE : Sérologie des maladies à virus	 79
• Variole, vaccine	87
• Herpès	88
• Varicelle, Zona	90
• Maladie des inclusions cytomégalytiques	91
• Chorio-méningite d'Armstrong	92
• Adéno-virus	93
• Rougeole	95
• Grippe	96
• Oreillons	99
• Poliomyélite	101
• Coxsakie	103
• ECHO	104
• Mononucléose infectieuse	106
• Ornithose, Psittacose, Nicolas-Favre	108
• Rickettsioses	110
 - CINQUIEME PARTIE : Sérologie et Parasitologie	 117
• Helminthiases	124
• Protozooses :	126
Paludisme	127
Toxoplasmose	129
• Les Mycoses	132
 - Conclusions	 135
- Bibliographie	139

